

Aus dem Institut für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. Brigitte Vollmar

Rolle der hepatic arterial buffer response für das Hyperperfusionssyndrom bei der small-for-size Leber



Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock
vorgelegt von

Jessica Ritter,
aus Lübz
Rostock, 03. September 2014

Dekan: Herr Prof. Dr. med. univ. E. C. Reisinger

1. Gutachter: Frau Prof. Dr. med. B. Vollmar

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. T. Y. Tsui

3. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. B. Nashan (UKE Hamburg)

Tag der Verteidigung: 19. Mai 2015

It always seems impossible until it's done.

Nelson Mandela

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	iii
Zusammenfassung	1
Abstract	2
1 Einleitung.....	3
1.1 Leber-Lebendspende/Splitlebertransplantation	3
1.2 Erweiterte Leberresektion.....	4
1.3 Small-for-size Syndrom (SFSS).....	4
1.4 Leberregeneration	5
1.4.1 Definition	6
1.4.2 Theorien der Leberregeneration	6
1.5 Makrohämodynamik der Leber	9
1.5.1 Physiologische Bedingungen	9
1.5.2 Portale Hyperperfusion	10
1.5.3 Hepatic Arterial Buffer Response (HABR)	10
1.6 Mikrohämodynamik der Leber	12
1.6.1 Scherstress als Trigger der Leberregeneration.....	12
1.6.2 Scherstress als Trigger der Leberdegeneration – Small-for-size Syndrom	14
2 Ziel der Studie	15
3 Material und Methoden.....	17
3.1 Versuchstiere.....	17
3.2 Experimentelles Modell	17
3.2.1 Überlebensstudie (Set 1)	18
3.2.2 Analyse der hepatischen Makrozirkulation (Set 2).....	20
3.2.3 Leberregenerationsmodell (Set 3).....	22
3.3 Untersuchungstechniken	23
3.3.1 Blutflussmessung mittels Laufzeitdifferenzverfahren	23

3.3.2	Messung des intrahepatischen Sauerstoffpartialdruckes	24
3.3.3	Probeentnahmen und Analysen.....	25
3.3.4	Bestimmung leberspezifischer Enzyme	25
3.3.5	Histologie	26
3.3.6	Western Blot	26
3.3.7	Immunhistologie.....	27
3.4	Statistik.....	28
4	Ergebnisse	29
4.1	Überlebensversuche.....	29
4.2	Hepatische Makrohämodynamik	30
4.3	Intrahepatischer Sauerstoffpartialdruck	33
4.4	Leberregeneration	34
4.5	Lebergewicht	35
4.6	Hepatozelluläre Integrität.....	35
4.7	Molekularbiologie.....	36
4.8	Zusammenfassung der Ergebnisse	37
5	Diskussion	39
5.1	Diskussion des Modells	39
5.2	Diskussion der Untersuchungstechniken.....	41
5.3	Diskussion der Ergebnisse	43
6	Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....	52
	Literaturverzeichnis	53
	Danksagung	69
	Thesen zur Dissertation.....	70
	Eidesstattliche Erklärung	72

Abkürzungen

A.	Arteria
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
BF	Blutfluss
CCl ₄	Tetrachlorkohlenstoff
CO	Kohlenmonoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSO	Deutsche Stiftung Organtransplantation
ECM	Extrazelluläre Matrix
EGF	endothelial growth factor
EpoR	Erythropoetin Rezeptor
FLR	future liver remnant
GRWR	graft to recipient weight ratio
HABF	hepatoarterieller Blutfluss
HABR	hepatic arterial buffer response
HAT	hepatoarterielle Thrombose
HBO	hyperbare Sauerstofftherapie
HGF	hepatocyte growth factor
HO-1/-2	Hämoxygenase-1/-2
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
HSP	Hitzeschockprotein
IL-1/-6	Interleukin-1/-6
IPRI	Ischämie-Präservierungs-Reperfusionsschäden
KG	Körpergewicht
L	Ligatur
L-NAME	N ^G -Nitro-L-Arginin-Methylester
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
PGE ₂	Prostaglandin E ₂

PGI ₁	Prostaglandin I ₂
pHx	partielle Hepatektomie
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PV	Pfortader
PVBF	portalvenöser Blutfluss
S	Splenektomie
SFS	small-for-size
SFSS	small-for-size Syndrom
SNAP	S-Nitroso-N-Acetyl-DL-Penicillamine
TGF- α - β	transforming growth factor - α - β
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
uPA	Urokinase Typ Plasminogen Aktivator
uPAR	Urokinase Typ Plasminogen Aktivator Rezeptor
VEGF	vascular endothelial growth factor

Zusammenfassung

Die Prävention einer portalen Hyperperfusion in der small-for-size (SFS) Leber führt zu einem besseren postoperativen Outcome. Ziel dieser Studie war es, die der Prävention einer Hyperperfusion zugrundeliegenden Mechanismen aufzuklären, mit besonderem Augenmerk auf die enge Beziehung zwischen dem Blutfluss (BF) in der Pfortader (PV) und in der Leberarterie. Hierzu wurden Wistar-Ratten in verschiedene Gruppen unterteilt. Alle Tiere wurden einer stufenweisen, partiellen Hepatektomie (pHx) unterzogen, wobei bei einigen Tieren zuvor eine Splenektomie oder eine Splenektomie mit anschließender Ligatur der A. hepatica erfolgte. Der portalvenöse (PVBF) und hepatoarterielle Blutfluss (HABF) wurden ebenso wie der Sauerstoffpartialdruck (pO_2) des Lebergewebes nach jedem einzelnen Resektionsschritt von pHx30 bis pHx90 ermittelt. Desweiteren wurden die Leberregeneration und die Expression Hypoxie-sensitiver Gene in jeder Gruppe nach pHx85 untersucht. Die stufenweise pHx90 führte zu einem stetigen und bis zu 4-fachen Anstieg des PVBF, einem leichten Abfall des HABF mit einer Reduktion des pO_2 um 50%, einer vermehrten Expression Hypoxie-sensitiver Gene und einer erhöhten Mortalität. Die Splenektomie vor pHx reduzierte den PVBF und resultierte in einem Anstieg des HABF mit gleichzeitiger Verdopplung des intrahepatischen pO_2 . Die verminderte Expression Hypoxie-sensitiver Gene ging mit einer verbesserten hepatozellulären Regeneration (nach pHx85) und einer höheren Überlebensrate (nach pHx90) einher. Die Ligatur der A. hepatica hob den positiven Effekt der Splenektomie bezüglich Lebergewebeoxygenierung, Proliferation und Überleben auf. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die positiven Effekte der Splenektomie in der SFS Leber auf den Anstieg des HABF mit suffizientem Sauerstoffangebot und weniger auf die reduzierte portale Hyperperfusion in den verbleibenden Leberlappen zurückzuführen sind.

Abstract

Prevention of acute portal hyperperfusion in small-for-size (SFS) livers by inflow modulation results in beneficial postoperative outcome. The objective of this study was to unravel the underlying mechanism, emphasizing the intimate relationship between portal venous (PV) and hepatic arterial blood flow (HABF). Rats underwent partial hepatectomy (pHx), splenectomy before pHx or splenectomy and ligation of the A. hepatica before pHx. PVBF, HABF, and tissue pO_2 were assessed during stepwise resection from 30% to 90%. Hepatic regeneration and hypoxia-responsive gene expression were analyzed in each group after non-lethal pHx85. pHx90 caused a 4-fold rise of PVBF, a slight decrease of HABF with a 50% reduction of pO_2 , a hypoxia-associated gene expression and high mortality. S before pHx reduced the PVBF and caused a rise of HABF with doubling of tissue pO_2 . An attenuation of hypoxia-responsive gene expression turned into enhanced hepatocellular regeneration and improved survival. A. hepatica ligation abolished the beneficial effect of splenectomy on tissue oxygenation, proliferation and outcome. In conclusion, the beneficial effect of splenectomy in SFS livers can be attributed to a rise in HABF with sufficient oxygen supply rather than to a reduced portal venous hyperperfusion to the remnant liver.

1 Einleitung

1.1 Leber-Lebendspende/Splitlebertransplantation

Die Lebertransplantation ist in der Behandlung von Lebererkrankungen die Therapie der Wahl, im Endstadium von Lebererkrankungen sogar die einzige Möglichkeit (Walter et al., 2008). Nach Angaben der DSO (Deutsche Stiftung Organtransplantation) wurden im Jahr 2013 in Deutschland 884 Lebertransplantationen nach postmortaler Organspende und 83 nach einer Lebendspende durchgeführt. Demgegenüber standen 1.305 Neuanmeldungen für eine Lebertransplantation (DSO Jahresbericht 2013, 2014). Die häufigsten Indikationen für eine Lebertransplantation waren 2012 in absteigender Reihenfolge die Fibrose und Zirrhose der Leber, alkoholische Lebererkrankung, bösartige Neubildungen der Leber und der intrahepatischen Gallengänge, Leberversagen, sonstige Erkrankungen der Gallenwege, angeborene Fehlbildungen der Gallenblase, der Gallengänge und der Leber, Stoffwechselstörungen sowie venöse Embolien und Thrombosen (DSO Jahresbericht 2013, 2014).

Aufgrund der Diskrepanz von verfügbaren Spenderorganen und wachsenden Wartelisten erfahren die Leber-Lebendspende und die Splitlebertransplantation als Alternativverfahren einen besonderen Stellenwert. In der Kinder-Lebertransplantation konnte dadurch die Letalität der Kinder auf der Warteliste nahezu eliminiert werden. Zudem werden exzellente Kurz- und Langzeit-Überlebensraten erzielt. Bei Erwachsenen konnten diese Ziele jedoch noch nicht erreicht werden. Wurde die Teilleber-Lebendspende bis vor einigen Jahren ausschließlich bei Kindern durchgeführt, wird sie mittlerweile auch für Erwachsene in Erwägung gezogen (Walter et al., 2008).

Prinzipiell muss zwischen der Spende für ein Kind und der Spende für einen erwachsenen Empfänger unterschieden werden. Für Kinder bis 25 kg Körpergewicht (KG) ist im Allgemeinen der linkslaterale Leberlappen (Segmente II–III, ca. 20% der Gesamtleber) ausreichend. Für Kinder über 25 kg KG und kleine Erwachsene mit einem KG unter 65 kg wird der linke Leberlappen (Segmente I–IV, ca. 40% der Gesamtleber) des Spenders reseziert. Erwachsene über 65 kg KG benötigen in der Regel einen rechten Leberlappen (Segmente V–VIII, circa 60% der Gesamtleber) (Walter et al., 2008).

Bei der Splitlebertransplantation gehen aus dem Organ eines hirntoten Spenders zwei funktionsfähige Teillebern hervor (ein kleinerer linkslateraler bzw. linker und ein größerer rechter Leberlappen). Bei der Leber-Lebendspende wird einem lebenden Spender ein Teil der Leber entnommen, um diesen dem Empfänger zu transplantieren. In der Erwachsenen-Lebertransplantation werfen diese beiden Verfahren größere Risiken und Vorbehalte auf, da das für den Erwachsenen benötigte Lebervolumen (bis zu 70% der Spenderleber) deutlich höher ist als für ein Kind. Wird einem Erwachsenen der linke Leberlappen transplantiert, so ist dieser oftmals zu klein für den Empfänger. Wird einem Erwachsenen der rechte Leberlappen transplantiert, so ist dieser zwar groß genug, um eine ausreichende Leberfunktion im Empfänger zu erfüllen, gleichzeitig erhöht sich jedoch das Risiko für den Spender durch ein zu kleines verbleibendes Restorgan (Walter et al., 2008). Eine der größten Herausforderungen ist es daher, die richtige Transplantatgröße zu ermitteln, um einerseits den klinischen Erfordernissen des kranken Empfängers nachzukommen und andererseits die Sicherheit des gesunden Spenders zu gewährleisten (Gruttadauria et al., 2007).

1.2 Erweiterte Leberresektion

Bei der Behandlung von benignen (z. B. Adenome, Hämangiome) und malignen Lebertumoren (z. B. hepatozelluläres Karzinom, cholangiozelluläres Karzinom) sowie Lebermetastasen (insbesondere bei Kolon- und Rektumkarzinomen) als auch bei traumatisch bedingten Lebererkrankungen kann eine erweiterte Leberresektion (pHx > 70%) erforderlich sein, die das Verbleiben eines für den menschlichen Organismus zu kleinen Organs nach sich ziehen kann.

1.3 Small-for-size Syndrom (SFSS)

Das SFSS ist ein klinisches Syndrom, das auftritt, wenn das nach pHx, Transplantation oder Schädigung (u. a. Viren, Chemikalien) verbleibende Lebergewebe aufgrund der zu geringen Größe nicht mehr in der Lage ist, die Leberfunktionen aufrechtzuerhalten (Tucker und Heaton, 2005). Kiuchi et al. fanden heraus, dass eine graft to recipient weight ratio (GRWR) < 0,8% zu einer Überlebensrate von Patienten < 50% innerhalb eines Jahres führt (Kiuchi et al., 1999). Das SFSS wird nach Clavien wie folgt definiert: Dysfunktion (Präsenz von mindestens 2 der folgenden Parameter an 3 aufeinanderfolgenden Tagen: Bilirubin > 100 µmol/L (5,84 mg/dl), International

Normalized Ratio > 2 und Enzephalopathie Grad 3 bzw. 4) eines zu kleinen Leberresektates (GRWR $< 0,8\%$) während der ersten postoperativen Woche nach Ausschluss anderer Ursachen (Clavien *et al.*, 1992, Dahm *et al.*, 2005; Ogura *et al.*, 2010). Als hauptsächliche Ursache für das SFSS wird die portale Hyperperfusion mit dem hohen intravaskulären Scherstress angenommen (Dahm *et al.*, 2005; Demetris *et al.*, 2006; Eipel *et al.*, 2005; Glanemann *et al.*, 2005). Dies führt zu einer hämodynamischen und funktionellen Überforderung der relativ zu kleinen Leber und kann in einem Organversagen innerhalb der ersten postoperativen Woche münden (Eipel *et al.*, 2012; Dahm *et al.*, 2005; Kiuchi *et al.*, 2003). Nach pHx60 beim Menschen verdoppelt sich der Blutfluss (BF) in der Pfortader (PV). Es kommt zu einem geringgradigen SFSS, das innerhalb weniger Tage wieder verschwindet. Erweiterte Leberresektionen ($> 75\%$) führen jedoch zu einem stärker ausgeprägten und länger andauernden SFSS mit deutlich höherer Morbidität und Mortalität (Troisi *et al.*, 2005).

Trotz ständiger Verbesserung operativer Techniken und perioperativer Intensivpflege kommt es bei manchen Patienten noch immer zu mangelhafter Regeneration und Leberfunktionsstörung nach pHx (Dahm *et al.*, 2005). Um die wachsende Disproportion von Spendern zu Empfängern zu kompensieren, muss es Gegenstand der Forschung sein, die Verfahren der Leber-Lebendspende, der Splitlebertransplantation und der ausgedehnten Leberresektion für Spender und Empfänger noch sicherer und effektiver zu gestalten.

1.4 Leberregeneration

Für das Studium der Leberregeneration hat sich die Technik der pHx nach Higgins und Anderson etabliert (Higgins und Anderson, 1931). Hierbei werden Nagetieren (Ratten oder Mäusen) 3 der 7 Leberlappen (entspricht 70% der Leber) chirurgisch entfernt, ohne das Gewebe der verbleibenden 4 Leberlappen zu schädigen. Diese nehmen in der Folge solange an Größe zu, bis sie die Masse der ursprünglichen Leber erreicht haben. Der Prozess dauert bei Nagetieren ca. 7-10 Tage (Michalopoulos, 2007; Taub, 1996; Taub 2004), beim Menschen ca. 3-6 Monate (Marcos *et al.*, 2000).

Bezüglich des Resektionsausmaßes können folgende Aussagen getroffen werden:

1. Eine pHx $> 85\%$ führt zu einer deutlich langsameren Zellproliferation (Fausto, 2001; Martins *et al.*, 2008).

2. Eine pHx zwischen 40 und 70% bewirkt eine recht zügige regenerative Antwort mit einem definierten Höhepunkt der proliferativen Aktivität nach 24 Stunden bei Ratten und 48 Stunden bei Mäusen (Bucher und Swaffield, 1964; Taub, 2004).
3. Eine pHx < 40% führt zu einer deutlich langsameren regenerativen Antwort. Nach einer pHx von 5% steigt die Zellzahl gerade mal um 0,5% nach 300 Stunden (Furchtgott *et al.*, 2009). Das stimmt damit überein, was Mac Donald *et al.* als Schwellenwert der Leberregeneration beschreiben: mindestens 9-12% der Leber müssen reseziert werden, um eine statistisch signifikante Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Synthese auszulösen (Mac Donald *et al.*, 1962).

1.4.1 Definition

Die Regeneration der Leber in Säugetieren ist einzigartig. Nur wenige Tierarten wie bestimmte Würmer, Insekten, Reptilien und Amphibien sind zur Regeneration, einschließlich der Rekonstruktion ganzer Körperteile, in der Lage (Abshagen, 2008; Su *et al.*, 2002). Leberregeneration bedeutet strenggenommen nicht Regeneration im eigentlichen Sinne, da sich die resezierten Leberlappen nicht wieder neu bilden. Stattdessen wachsen die verbleibenden Leberlappen solange, bis die Leber ihre ursprüngliche Masse wieder erreicht hat. Es handelt sich hierbei also um eine kompensatorische Hyperplasie und Hypertrophie (Fausto, 2000; Furchtgott, 2009; Taub, 2004).

1.4.2 Theorien der Leberregeneration

Bereits in der Antike war bekannt, dass die Leber eine erhebliche regenerative Kapazität aufweist (Sage des Prometheus). Ihre Fähigkeit, Lebermasse nach pHx oder Schädigung durch Chemikalien, Viren und andere Faktoren mit einer Präzision von ca. 10% vollständig zu ersetzen, ist einzigartig im Organismus von Säugetieren (Fausto, 1997). Für die Regeneration der gesunden Leber werden weder Stamm- noch Vorläuferzellen benötigt, sondern lediglich funktionstüchtige Hepatozyten (Taub, 2004). Die Hepatozyten sind in der Lage, nach Schädigung der Leber (z. B. durch pHx oder Tetrachlorkohlenwasserstoff (CCl₄) in den Replikationszyklus einzutreten und in jeden beliebigen Zelltyp der Leber zu differenzieren, so dass sie von Natur aus Charakteristika von Vorläuferzellen aufweisen (Farber und Gerson, 1984; Su Al *et al.*, 2002). Die Hepatozyten sind jedoch nicht mehr zur Replikation fähig, wenn sie aufgrund einer Schädigung, z. B. durch Dipin, Retrorsin oder

Galaktosamin, funktionsuntüchtig sind. In diesem Fall übernehmen lebereigene Stammzellen, die sogenannten Ovalzellen, die Regeneration des Lebergewebes (Dabeva und Shafritz, 1993; Fausto, 2000). In anderen Studien der Lebertransplantation und –regeneration wird diskutiert, dass Knochenmarkstammzellen die Fähigkeit besitzen, in Hepatozyten zu differenzieren (Fujii *et al.*, 2002; Lagasse *et al.*, 2000; Petersen *et al.*, 1999). Es gibt verschiedene Theorien zur Leberregeneration. Die wichtigsten sind die humorale Theorie und die Blutflusstheorie.

1.4.2.1 Verlust an Lebermasse – humorale Theorie

Zahlreiche Studien erforschen die Signalwege, die es den Leberzellen ermöglichen zur selben Zeit sowohl die Homöostase des gesamten Körpers aufrechtzuerhalten als auch den Verlust von Lebergewebe nach pHx oder Leberzellschädigung zu kompensieren (Michalopoulos, 2007). Diverse Faktoren (z. B. Gene, Wachstumsfaktoren, Zytokine, Prostaglandine (PG), Transkriptionsfaktoren, Komplementbindungsfaktoren, Hormone und ihre Rezeptoren) spielen hierbei eine wichtige Rolle (Michalopoulos, 2007, 2010). Etwa 1 von 20.000 Hepatozyten (0,005%) befindet sich in der gesunden Leber eines Erwachsenen im Zellzyklus (Furchtgott *et al.*, 2009; Mangnall *et al.*, 2003). Die übrigen Hepatozyten sind in der Ruhe-Phase und nehmen an keiner Zellteilung teil. Nach pHx werden die ruhenden Hepatozyten in den Zellzyklus überführt (Mangnall *et al.*, 2003; Abb. 1).

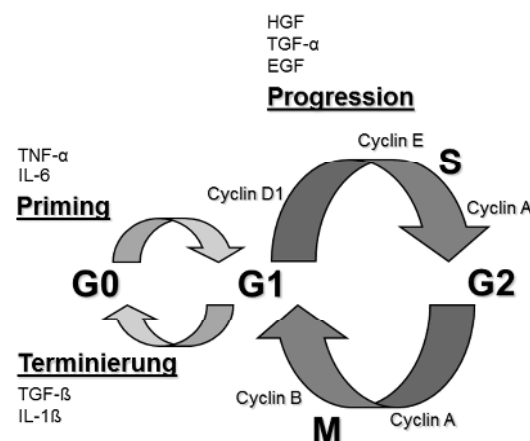


Abb. 1: Drei-Phasen-Modell der Leberregeneration (pHx, partielle Hepatektomie; G0, Ruhe-Phase; , Wachstums-Phase 1; G2, Wachstums Phase 2; S, Synthese-Phase; M, Mitose-Phase). Abshagen, Dissertation 2008.

Die Hepatozytenproliferation lässt sich in 3 verschiedene Phasen einteilen, (i) in eine Priming-Phase, in der die Hepatozyten in den Zellzyklus überführt und für

Wachstumshormone sensibilisiert werden, (ii) eine Progressions-Phase, in der die Replikation stattfindet und (iii) eine Terminations-Phase, in der die Leberproliferation beendet wird (Fausto, 2000; Mangnall *et al.*, 2003; Taub, 2004).

1.4.2.2 Hämodynamische Faktoren – Blutflusstheorie

PHx führt, im Verhältnis zur verbleibenden Lebermasse, zu einem ansteigenden BF. Dies hat einen erhöhten intrahepatischen Scherstress zur Folge, der die Leberregeneration stimuliert und reguliert (Abb. 2).

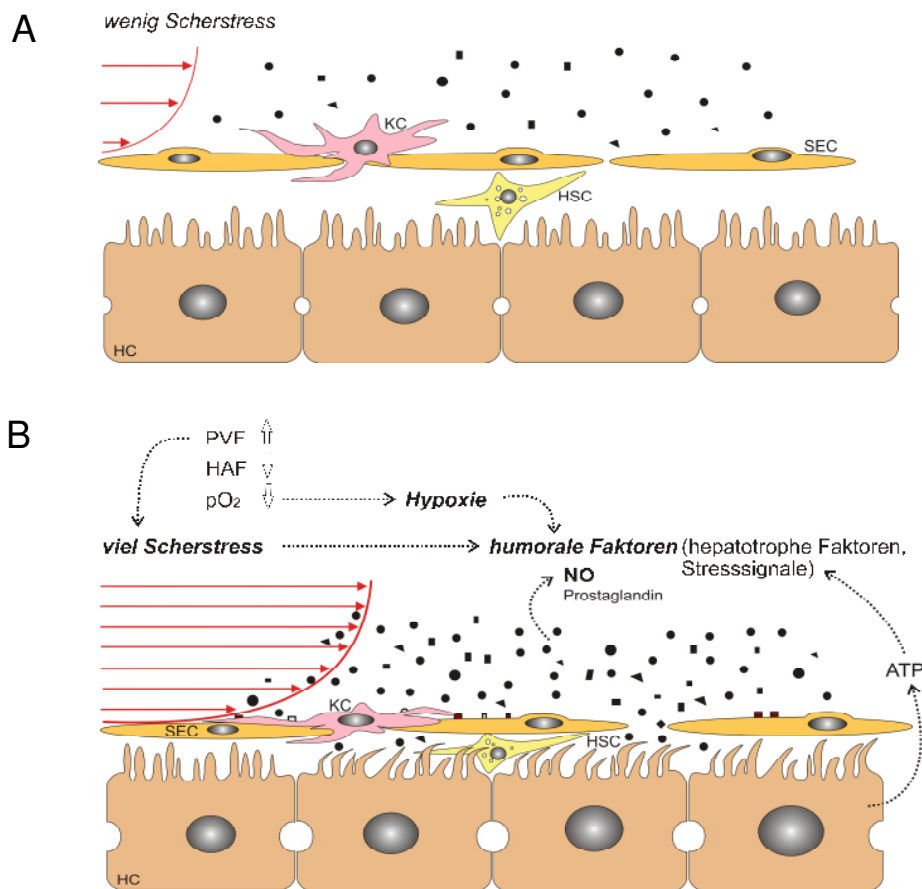


Abb. 2: Schematische Darstellung der Blutflusstheorie und relevanter Signale für die Leberregeneration. (A) Blutfluss unter physiologischen Bedingungen. (B) Eine pHx führt zu hämodynamischen Veränderungen des hepatischen Blutflusses und löst so Signalkaskaden aus, die die Leberregeneration fördern (pHx, partielle Hepatektomie; PVF, portalvenöser Blutfluss; HAF, hepatoarterieller Blutfluss; pO_2 , Sauerstoffpartialdruck; NO, Stickstoffmonoxid; ATP, Adenosintriphosphat; SEC, sinusoidale Endothelzelle; HSC, hepatische Sternzelle; KC, Kupferzelle; HC, Hepatozyt). Abshagen *et al.*, 2012.

Nach pHx70 verdreifacht sich das portalvenöse Blutvolumen pro Lebergewebeeinheit, da das Kapillarnetz der Leber auf 1/3 reduziert wurde, aber weiterhin vom initialen Blutvolumen perfundiert wird (Michalopoulos, 2007).

Blutflussmessungen zeigen nach pHx eine deutliche portale Einflussstauung mit Zunahme des Pfortaderdrucks in den verbleibenden Leberlappen (Lee *et al.* 1987; Yamamoto *et al.* 1992). Analog zum Pfortaderfluss - jedoch in stärkerem Ausmaß - verringert sich während der Resektion der BF in der A. hepatica (Cantré *et al.* 2008; Lee *et al.* 1987). In der Summe resultiert aber eine erhöhte Ratio von BF zu Lebermasse, was sich in einem ca. 2,5-fach erhöhten portalen BF pro Lebergewebseinheit widerspiegelt. Die daraus resultierende sinusoidale Hyperperfusion hält über mehrere Tage nach pHx an (Braet *et al.*, 2004). Der erhöhte BF kann jedoch nicht der einzige Faktor sein, der die Leberregeneration initiiert, da Studien auch Leberwachstum in parabiotischen Tieren gezeigt haben. Der Blutkreislauf dieser Tiere ist durch chirurgische Methoden vereint und der Pfortaderdruck in den Tieren mit intakter Leber entspricht nicht dem Blutdruck der Tiere mit resezierter Leber (Alston und Thomson, 1963; Bucher *et al.*, 1951; Wenneker und Sussmann, 1951).

1.5 Makrohämodynamik der Leber

1.5.1 Physiologische Bedingungen

Obwohl die Leber nur etwa 2,5% des KG ausmacht, wird sie in Ruhe von ca. 25% des Herzzeitvolumens durchströmt (Lautt, 2007). Ca. 75% dieses Blutes werden aus Magen, Darm, Milz, Pankreas, Gallenblase und viszeralem Fettgewebe drainiert und über die PV der Leber zugeführt (Lautt, 2007; Rappaport, 1980; Schenk *et al.*, 1962; Vollmar und Menger, 2009). Die Leber ist nicht in der Lage, den portalvenösen Blutfluss (PVBF) direkt zu beeinflussen (Greenway und Lautt, 1989). Die Regulation erfolgt über Mechanismen, die Einfluss auf den BF in den Splanchnikusorganen haben, die wiederum ihr Blut in die PV drainieren (Lautt, 2007). Ca. 25% des Blutes werden der Leber über die A. hepatica zugeführt (Greenway und Stark, 1971). Trotz des geringeren Blutvolumenflusses deckt die A. hepatica ca. 50% des Sauerstoff (O₂)-Bedarfes der Leber, während die PV mit ihrem zwar nährstoffreichem, aber sauerstoffarmen Blut ebenfalls mit ca. 50% zur Oxygenierung beiträgt (Eipel *et al.*, 2012; Vollmar und Menger, 2009). Der absolute hepatische BF einer gesunden 50 kg Person liegt zwischen 800 und 1200 ml/min, was ungefähr 100 ml/min pro 100 g Lebergewicht entspricht (Greenway und Stark, 1971; Kiuchi *et al.*, 1999; Troisi *et al.*, 2003). Der Druck in der PV beträgt 6-10 mmHg, der Druck in der A. hepatica entspricht dem in der Aorta beim Menschen (Balfour *et al.*, 1954; Greenway und

Stark, 1971). Es wird angenommen, dass sich ca. 40% des hepatischen Blutes in den großen Kapazitätsgefäßen (Pfortader, Leberarterie, Lebervenen) befinden, während bis zu 60% von den Sinusoiden gefasst werden (Greenway und Stark, 1971).

1.5.2 Portale Hyperperfusion

Ca. 75% des gesamten hepatischen BF erreichen die Leber über die PV (Vollmar und Menger, 2009). Nach erweiterter pHx oder Transplantation kleiner Transplantate fließt dieser Anteil durch ein deutlich an Größe reduziertes Gefäßbett und Scherkräfte werden frei (Eipel *et al.*, 2012; Glanemann *et al.*, 2005). Scherstress gilt als initialer Trigger einer komplexen Kaskade von Ereignissen, die im Falle eines erhöhten PVBF zur Zellproliferation und im Falle eines verminderten PVBF zur Apoptose führen (Sato *et al.*, 1997; Wang und Lautt, 1997).

1.5.3 Hepatic Arterial Buffer Response (HABR)

Der hepatoarterielle Blutfluss (HABF) wird über verschiedene extrinsische Faktoren, wie z. B. sympathische Nerven, zirkulierende Hormone und Nährstoffe beeinflusst. Neben der klassischen Autoregulation (Eipel *et al.*, 2010) scheint der wichtigste intrinsische Regulator des HABF die HABR zu sein (Lautt, 2007).

HABR bedeutet: der HABF verändert sich entgegengesetzt zum PVBF. Ein Anstieg des PVBF führt zu einem Abfall des HABF, während die Reduktion des PVBF eine Zunahme des HABF nach sich zieht (Betz, 1863; Burton-Opitz, 1911; Child, 1954; Gad, 1873; Lautt, 1981; Jakab *et al.*, 1995; Lautt, 2007). Es besteht jedoch keine Umkehrbarkeit: der PVBF wird nicht durch Veränderungen im arteriellen Schenkel beeinflusst (Eipel *et al.*, 2010; Jakab *et al.*, 1995; Lautt, 1981; Schenk *et al.*, 1962). Die Summe aus BF in PV und A. hepatica bleibt stets nahezu gleich (Lautt, 1985; Rochelau *et al.*, 1999). Die HABR nimmt somit eine Pufferfunktion ein, um Fluktuationen im gesamten BF der Leber zu minimieren (Eipel *et al.*, 2010; Lautt, 1985). Dies ist erforderlich, da die Leber ein wichtiges Entgiftungsorgan (z. B. Stoffwechselprodukte, Medikamente und Giftstoffe) darstellt und für die metabolische Homöostase zuständig ist. Die Leber hält den Spiegel an Hormonen und Nährstoffen aus dem Splanchnikusgebiet konstant (Lautt, 1977; Lautt, 1980; Richter *et al.*, 2001; Taub, 2004), synthetisiert und speichert Kohlenhydrate, Fette sowie Vitamine und Blutgerinnungsfaktoren (Taub, 2004) und produziert diverse Serumproteine, u. a.

Albumin und Akute-Phase-Proteine (Taub, 2004). Desweiteren ist die Leber für die hämodynamische Stabilität (Eipel *et al.*, 2010; Laut und Greenway, 1976; Lautt, 2007) zuständig und vermeidet damit eine Hypoxie mit Gewebsschädigungen (Lautt, 1977; Mathie und Blumgart, 1983). Der Regulationsmechanismus der HABR beruht am ehesten auf den lokal vorhandenen Mengen an Adenosin („Adenosin-wash-out“ Theorie, Abb. 3). Das Gewebe im Bereich der Widerstandsgefäße der Leber produziert, unabhängig vom O₂-Angebot, konstante Mengen an Adenosin, welches ein starker Vasodilatator der A. hepatica ist. Adenosin wird in den schmalen Mall-Raum sezerniert, der die hepatischen Arteriolen, portalen Venolen und sensorischen Nervenendigungen umgibt. Die Regulation der Adenosinkonzentration wird durch das „Auswaschen“ in die den Mall-Raum passierenden Blutgefäße reguliert. Bei zunehmendem PVBF werden große Mengen an Adenosin weggespült, was zur Vasokonstriktion der A. hepatica und damit zu einem reduzierten BF in diesem Gefäß führt. Kommt es zu einem Abfall des PVBF, wird weniger Adenosin „ausgewaschen“. Folge ist die Akkumulation des Adenosins, welches an Adenosinrezeptoren der A. hepatica bindet und somit zur Vasodilatation und Steigerung des HABF führt (Lautt, 1985; Lautt und Greenway 1987; Lautt, 1996; Wanless, 1999).

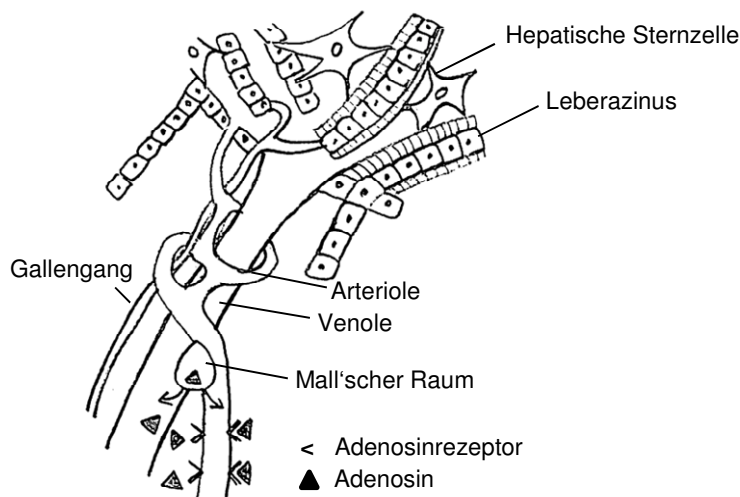


Abb. 3: „Adenosin-wash-out“ Theorie. Modifiziert nach Lautt *et al.*, 1985.

Die „Adenosin-wash-out“ Theorie wird dadurch gestützt, dass (1.) Adenosin ein starker Vasodilatator ist und es keinen anderen Dilatator gibt, der solch ein Ausmaß an Gefäßerweiterung bewirkt (Lautt und Legare, 1986), (2.) das Pfortaderblut mit den hepatoarteriellen Widerstandsgefäßen in Verbindung steht, (3.) die HABR durch diverse Adenosinrezeptorantagonisten (z. B. 1-Methyl-3-Isobutylxanthin) komplett

aufgehoben werden kann (Browse *et al.*, 2003; Ezzat und Lautt, 1987; Lautt und Legare, 1985; Richter *et al.*, 2001) und (4.) die Wirkung von Adenosin durch Adenosin-Aufnahmeinhibitoren (z. B. Dipyridamol) und damit die Pufferkapazität potenziert werden kann (Lautt und Legare, 1985). Die Kapazität der HABR konnte bislang nicht eindeutig bestimmt werden. Die Angaben reichen von 25-100% (Eipel *et al.*, 2010; Ho *et al.*, 2012; Lautt, 1983; Lautt und Legare, 1985; Lautt und Ming, 2005). Obwohl es nur zur teilweisen Kompensation von Veränderungen im PVBF kommt, wird das O₂-Defizit meist vollständig durch die HABR kompensiert (Lautt, 1996), und dies sogar in zirrhotischen Lebern (Mucke *et al.*, 2000). Die HABR ist auch noch nach Lebertransplantation (Bolognesi *et al.*, 2002; Henderson, 1992) und bei schweren Lebererkrankungen nachweisbar (Aoki *et al.*, 2005; Gülberg *et al.*, 2002; Iwao *et al.*, 1996; Mucke *et al.*, 2000; Richter *et al.*, 2000; Saftoiu *et al.*, 2002). Der PVBF bleibt bis zu 2 Jahre nach Lebertransplantation erhöht und geht mit einem reduzierten HABF einher (Bolognesi *et al.*, 2002).

1.6 Mikrohämodynamik der Leber

1.6.1 Scherstress als Trigger der Leberregeneration

Durch die Hyperperfusion der Leber nach pHx wirken vermehrt Druck und Scherkräfte auf die Leberzellen, insbesondere auf die Kupfferzellen und die sinusoidalen Endothelzellen (Abshagen *et al.*, 2012; Mangnall *et al.*, 2003). Diverse Studien beschreiben zahlreiche intrazelluläre Ereignisse, die durch Scherstress ausgelöst werden. Dazu gehört die direkte Stimulation von Oberflächenproteinen des Gefäßlumens und die Aktivierung von Ionenkanälen, die zur Mobilisierung von Ca²⁺ führen, welche als Regulatoren der Zellproliferation gelten (Busse und Fleming, 1998; White und Frangos, 2007). Des Weiteren führt Scherstress, d.h. die vermehrten Kräfte, die aufgrund des erhöhten PVBF auf die Gefäßwand wirken, zur vermehrten Expression der Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase (Hortelano *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 2008; Schoen *et al.*, 2001) und damit zur Produktion von NO (Busse und Fleming, 1998; Mangnall *et al.*, 2003; White und Frangos, 2007). NO wiederum bewirkt eine Aktivierung der sogenannten immediate early genes (z. B. c-fos, c-jun, c-myc), denen eine entscheidende Bedeutung für die transkriptionelle Steuerung des Wiedereintrittes der Zellen in den Zellzyklus zugeschrieben wird (Hsieh *et al.*, 1993; Morello *et al.*, 1990; Schoen und Lautt, 2002). Tiere, denen der NO-Synthase-Antagonist N^G-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) injiziert wurde, zeigten keine

proliferative Aktivität nach pHx (Wang und Lutt, 1997). Dies konnte durch die Gabe des NO-Donors S-Nitroso-N-Acetyl-DL-Penicillamine (SNAP) aufgehoben werden (Wang und Lutt, 1998). Das Vorkommen von NO in den frühen Stadien der Leberregeneration ist seit Mitte der 90er Jahre bekannt, wird aber vielfach nicht als Startsignal der Leberregeneration betrachtet (Magnell *et al.*, 2003). Scherstress bewirkt außerdem die Aktivierung der Cyclooxygenase, so dass vermehrt Prostaglandine (PGE_2 und PGI_2) freigesetzt werden. Die Blockade der Cyclooxygenase verhindert die Expression von c-fos und damit die Leberregeneration, was durch die Substitution von Prostaglandinen (PGE_2 und PGI_2) wieder aufgehoben werden kann (Schoen *et al.*, 2005). Die Prävention von Scherstress blockiert die Aktivierung der Regenerationskaskade. Dies konnte durch den Verschluss der A. mesenterica superior nach pHx70 anhand eines mangelnden Anstieges der c-fos Expression beobachtet werden (Schoen *et al.*, 2001). Sato *et al.* zeigten, dass es für den positiven Effekt des erhöhten portalvenösen Druckes (Scherstress) eine Grenze gibt. So führt eine pHx90 zwar ebenso zu einem schnellen Anstieg von c-fos, jedoch ist die Regeneration weniger effektiv (Sato *et al.*, 1997).

Außerdem konnte gezeigt werden, dass Scherstress zum Anstieg des Urokinase Typ Plasminogen Aktivator (uPA) und des Urokinase Typ Plasminogen Aktivator Rezeptors (uPAR) nach pHx in Ratten führt (Mars *et al.*, 1995). Die zunehmende Aktivität von uPA und uPAR wird bereits eine Minute nach pHx beobachtet (Mangnall *et al.*, 2003). Es ist bekannt, dass uPA nicht nur zur Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin und zum Auftreten von Fibrinolyseprodukten im Blut, wie es bei der Wundheilung zu beobachten ist, führt (Kim *et al.*, 1997; Michalopoulos, 2007), sondern im Rahmen der Leberregeneration das Remodelling der extrazellulären Matrix (ECM) einleitet, so dass es zur Zellteilung, Freisetzung der einfachen Kettenform von hepatocyte growth factor (HGF) und möglicherweise anderen Mitogenen aus der ECM, deren Umwandlung in die zweifache Kettenform und einer möglichen Aktivierung von Signalkaskaden kommt (Mangnall *et al.*, 2003).

Es gibt zahlreiche weitere intrazelluläre Ereignisse, die durch Scherstress ausgelöst werden und zur Leberregeneration beitragen. Dazu gehören die Migration von β -Catenin in den Hepatozytenzellkern, die Notch1 Signalisierung sowie die geänderte Expression von VCAM-1 und CD44 (Ando *et al.*, 1994) und die Freisetzung von Adenosintriphosphat (ATP) aus isolierten Hepatozyten (Schlosser *et al.*, 1996).

1.6.2 Scherstress als Trigger der Leberdegeneration – Small-for-size Syndrom

Der erhöhte PVBF nach ausgedehnter pHx oder Transplantation kleiner Leberlappen nimmt ebenso eine zentrale Rolle in der Pathogenese des SFSS ein (Dahm *et al.*, 2005; Glanemann *et al.*, 2005; Demetris *et al.*, 2006). Kleine Transplantate haben einen höheren portalvenösen Widerstand, was zu höheren Drücken in der PV führt (Ito *et al.*, 2003). Damit steigt der Scherstress, Sinusendothelzellen sowie Kupfferzellen werden geschädigt und folglich inflammatorische Zytokine (z.B. TNF- α und IL-6) freigesetzt (Panis *et al.*, 1997). Histologisch führt die portale Hyperperfusion zu einem Anschwellen von Hepatozyten, dem sogenannten “hepatocyte ballooning“ (Marcos 2000, Man 2001, Man 2003, Troisi 2003). Ferner wird in dieser Situation ein Verlust des Disse’schen Raums sowie eine Zunahme der Räume zwischen den sinusoidalen Endothelzellen als Ausdruck der Organschädigung beobachtet (Man *et al.*, 2003). Außerdem kommt es, bedingt durch den reduzierten arteriellen BF, zur Hepatozytenatrophie (Demetris *et al.*, 2006). Biochemisch liegen eine Cholestase mit erhöhten Werten für konjugiertes Bilirubin und Transaminasen sowie eine verlängerte Prothrombinzeit vor (Tucker und Heaton, 2005). Dies bezeichnet man als Hyperperfusionssyndrom, das sich im sogenannten SFSS widerspiegelt (Dahm *et al.*, 2005; Demetris *et al.*, 2006; Glanemann *et al.*, 2005). Desweiteren kommt es zur Bildung von Aszites, Versagen der Nieren und der Lunge. Kann keine Retransplantation erfolgen, führt das SFSS zum Tod (Kiuchi *et al.*, 2003). Ogura *et al.* berichteten, dass der portalvenöse Druck nach Transplantation eines für den Empfänger zu kleinen Transplantates 15 mmHg nicht überschreiten sollte, um einen Benefit für den Patienten zu erreichen. Übersteigt der Druck in der PV 15 mmHg, d.h. ist das Transplantat viel zu klein für den Empfänger, sollten chirurgische Verfahren zur Senkung des Pfortaderdruckes angewandt werden (Ogura *et al.*, 2010). Hier stellt sich auch die Frage, welche Bedeutung der verminderten Oxygenierung durch die HABR-bedingte Konstriktion der A. hepatica zuteil wird. Bisher ist dieses Forschungsfeld noch wenig untersucht und die Bedeutung einer Hypoxie wird möglicherweise unterschätzt.

2 Ziel der Studie

Die pHx führt zur portalen Hyperperfusion des verbleibenden Lebergewebes. Der daraus resultierende Anstieg des intrahepatischen Scherstress wird bisher als zentraler Faktor in der Pathogenese des SFSS dargestellt. Bislang wenig Berücksichtigung findet in diesem Zusammenhang jedoch die arterielle Versorgung der Leber. Ziel dieser experimentellen Studie war es, mit Hilfe des etablierten Modells der ausgedehnten Leberresektion an Ratten, die hepatische Makrozirkulation zu untersuchen und herauszufinden, welche Bedeutung die hepatoarterielle Durchblutung für die Pathogenese des SFSS hat (Abb. 4). Zusätzlich wurden histologische, immunhistochemische, laborchemische und molekularbiologische Verfahren durchgeführt, um die Untersuchung zu erweitern und zu vervollständigen.

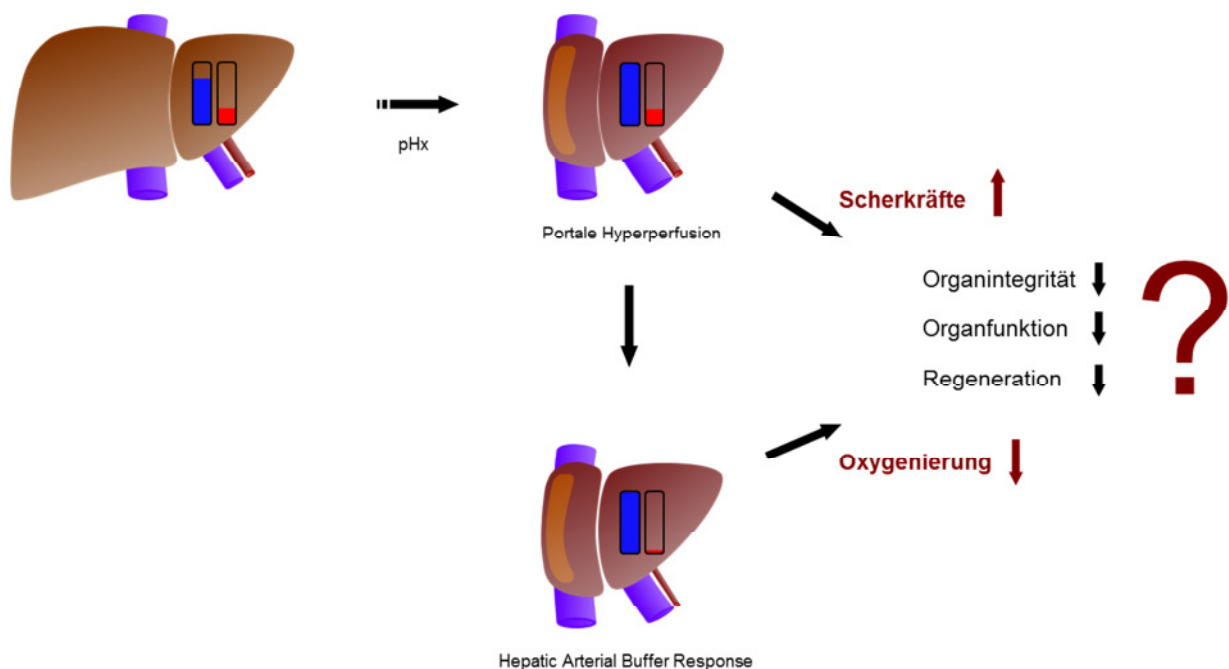


Abb. 4: Schematische Darstellung des Verhältnisses der portalvenösen und hepatoarteriellen Versorgung unter physiologischen Bedingungen sowie nach partieller Hepatektomie mit den möglichen Auswirkungen der portalen Hyperperfusion und der Hepatic Arterial Buffer Response (pHx, partielle Hepatektomie).

Folgende wesentliche Fragestellungen wurden untersucht:

1. Führt die portalvenöse Hyperperfusion zu einer arteriellen Minderdurchblutung der Leber?
2. Führt ein verminderter HABF zur Minderoxygenierung des Lebergewebes?
3. Hat eine verminderte Oxygenierung Einfluss auf Organintegrität, Organfunktion und Regeneration?
4. Zusätzliche Splenektomie reduziert die portalvenöse Hyperperfusion. Welchen Einfluss hat dies auf die hepatoarterielle Durchblutung und Versorgung mit O₂?
5. Welchen Anteil hat eine Minderoxygenierung des Lebergewebes am SFSS und an der Leberregeneration?
6. Welche therapeutischen Maßnahmen gibt es, um die hepatoarterielle Versorgung zu verbessern?

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurden männliche Wistar-Ratten mit einem KG von ca. 230-350 g verwendet. Die Tiere entstammten einer Zucht (Charles River Labor, Sulzfeld, Deutschland). Sie wurden vor Beginn der Untersuchungen für 4-5 Tage in einem klimatisierten Raum (Temperatur 22-24°C, Luftfeuchtigkeit ~ 60%) der Versuchstierhaltung des Institutes für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock unter Einhaltung eines 12-Stunden-Tag-Nacht-Rhythmus und unter Bereitstellung von Wasser und Standardlaborfutter (ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) ad libitum gehalten. Sämtliche Tierversuche wurden entsprechend dem Tierschutzgesetz und der Nutzerordnung der Zentralen Versuchstierhaltung der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock durchgeführt.

3.2 Experimentelles Modell

Die Experimente wurden in 3 Studienabschnitte (Sets) untergliedert (Tab. 1):

Tab. 1: Darstellung der experimentellen Gruppen, Untergruppen/Verfahren und Anzahl von Tieren pro Gruppe (pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie, L, Ligatur).

Gruppen	Untergruppen/Verfahren	Tiere (n)	
Set 1 Überlebensstudie	pHx90	15	
	pHx90 + S	15	
	pHx90 + S + L	15	
Set 2 Schrittweise Hepatektomie Analyse der Makrozirkulation	pHx30, 70, 85, 90	5	
	pHx30, 70, 85, 90 + S	5	
	pHx30, 70, 85, 90 + S + L	5	
Set 3 Leberregenerationsmodell Analyse von Lebergewebe und Plasma 24 h/ 4 d nach Operation		24 h	4 d
	pHx85	5	5
	pHx85 + S	5	6
	pHx85 + S + L	5	6

Die einzelnen Studienabschnitte (Set 1-3) beinhalteten wiederum je 3 Versuchsgruppen: stufenweise pHx90 (Abb. 5 und 6), Splenektomie vor stufenweiser pHx90 sowie Splenektomie mit zusätzlicher Ligatur der A. hepatica vor stufenweiser pHx90. Die letztere Gruppe wurde konzipiert, um den Einfluss der HABR zu unterbinden.

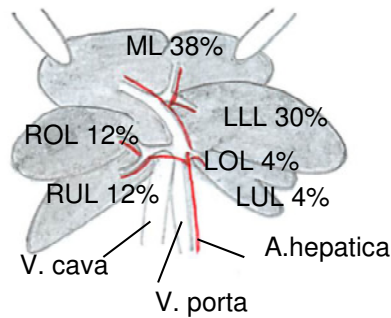


Abb. 5: Schematische Darstellung der Anatomie der Rattenleber mit den Hauptgefäßen und den ungefähren Prozentangaben des Gewichtes der einzelnen Leberlappen (A., Arteria; V., Vena; ML, medialer Lappen; LLL, linkslateraler Lappen; ROL, rechter oberer Lappen; RUL, rechter unterer Lappen; LOL, linker oberer Lappen; LUL, linker unterer Lappen). Der ML wurde mit Hilfe zweier Wattestäbchen aufgeklappt. Modifiziert nach Palmes und Spiegel, 2004; Prozentangaben nach Martins *et al.*, 2008.

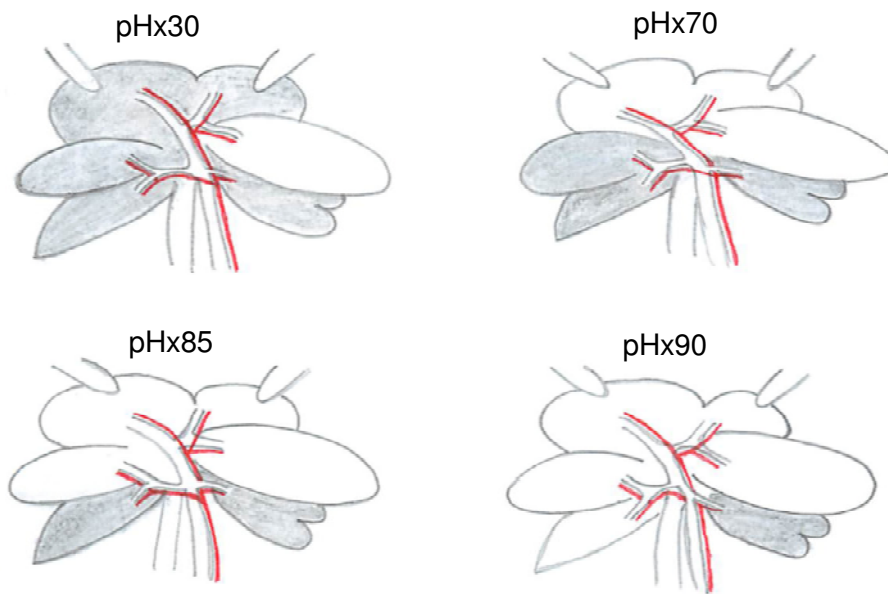


Abb. 6: Schematische Darstellung der stufenweisen, partiellen Hepatektomie (helle Leberlappen) der Ratte (pHx, partielle Hepatektomie). Modifiziert nach Palmes und Spiegel, 2004.

3.2.1 Überlebensstudie (Set 1)

Da eine pHx90 ein letales Modell darstellt, wurde eine Überlebensstudie über 10 Tage durchgeführt (Tab. 1). Hierzu wurden jeweils 15 Tiere pro Gruppe einer pHx90 unterzogen. Die Einleitung der Anästhesie erfolgte via Inhalation mit einer Isoflurankonzentration von 5% und einem O₂-Fluss von 1,2 l/min, um eine möglichst

schnelle Narkose ohne Exzitationen zu gewährleisten. Dazu wurden die Tiere zunächst in eine durchsichtige Ganzkörperkammer gesetzt, welche in das halbgeschlossene Kreissystem des Narkosegerätes (Sulla 808 Inhalations-Narkosegerät, Dräger AG, Lübeck, Deutschland) eingebaut ist. Nach Erreichen einer ausreichenden Narkosetiefe wurden die Tiere in Rückenlage auf einer Heizplatte positioniert, um eine konstante rektale Körpertemperatur von 36-37°C zu gewährleisten. Zur Aufrechterhaltung der Narkosetiefe wurde das Isofluran/O₂-Gemisch über eine Kopfkammer in einer Dosierung von 1,5-2,0% und einem O₂-Fluss von 0,5 l/min zugeführt. Der Bauch wurde elektrisch rasiert und mit Povidon-Iod Lösung desinfiziert. Anschließend erfolgte eine mediane Laparotomie und die Leber wurde von ihren Ligamenten befreit. Die entsprechenden Leberlappen (Abb. 6) konnten nun reseziert werden, indem ein nicht resorbierbarer 4-0 Faden möglichst nahe am Ursprung (linker seitlicher Lappen, medianer Lappen und rechter oberer Lappen) bzw. mit etwas Abstand zum Ursprung (rechter unterer Lappen) gelegt und ein doppelter Knoten gesetzt wurde. Das Einhalten des Abstandes war erforderlich, um weiterhin einen adäquaten BF in den verbleibenden Leberlappen gewährleisten zu können (Abb. 7). Die Operationen wurden mit mikrochirurgischen Instrumenten (Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) durchgeführt.

Zusätzlich erfolgte in den Gruppen 2 und 3 eine Splenektomie vor pHx90. Hierzu wurden die darüberliegenden Organe insoweit mobilisiert, dass die Milz sanft herausgeführt werden konnte. Die die Milz versorgenden Gefäße wurden mit einem 4-0 Faden einzeln ligiert. In der Gruppe 3 wurde außerdem die A. hepatica direkt oberhalb der Bifurkation der A. gastroduodenalis und A. coeliaca vor pHx mit einem 4-0 Faden umschlungen und ligiert. Dazu wurde ein doppelter Knoten gesetzt. Nachdem Leber- und Milzgewebe entnommen und gewogen wurden, wurde der Bauchraum mit körperwarmer 0,9%iger NaCl-Lösung gespült sowie ein Volumen von 2 ml NaCl-Lösung belassen. Im Anschluss wurde der Bauch mittels fortlaufender nicht resorbierbarer 3-0 Naht wieder verschlossen. Es erfolgte eine Desinfektion mit Povidon-Iod Lösung. Postoperativ konnten sich die Ratten unter einer wärmenden Infrarotlampe (Beurer GmbH, Ulm, Deutschland) für 60 Minuten vom operativen Eingriff erholen.

3.2.2 Analyse der hepatischen Makrozirkulation (Set 2)

Zur Untersuchung des extrahepatischen BF der V. portae und A. hepatica sowie der intrahepatischen Oxygenierung des Lebergewebes wurde bei den Ratten in jeder der 3 Untergruppen (je 5 Tiere) eine stufenweise pHx30, 70, 85, 90 durchgeführt (Tab. 1). 5 Tiere wurden nur hepatektomiert, 5 Tiere wurden zuvor splenektomiert und weitere 5 Tiere unterzogen sich zusätzlich zur Splenektomie der Ligatur der A. hepatica vor pHx. Die Narkoseeinleitung der Tiere erfolgte intraperitoneal mittels Pentobarbital (50 mg/kg KG). Nach der Entfernung der Haare an Hals und Bauch mittels Elektrorasur (Aesculap ® Favorita II, Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) wurden die Tiere in Rückenlage auf einen Operationstisch mit integrierter Heizplatte (Firma Klaus Effenberger, Pfaffing, Deutschland) gelegt. Die Körpertemperatur wurde mit Hilfe einer rektal platzierten Sonde (Firma Klaus Effenberger, Pfaffing, Deutschland) während des Versuchszeitraumes überwacht. Der chirurgische Eingriff begann am Hals mit einer medialen Längsinzision. Nach stumpfer Dissektion des subkutanen Fettgewebes wurde die Trachea freigelegt und zur nachfolgenden Positionierung eines Katheters (Kit Aspiration Adapter, Qty. 1, Bayer Corporation, Indianapolis, USA) tracheotomiert. Dies erleichterte die Spontanatmung der Tiere. Im Anschluss erfolgte die Darstellung der V. jugularis externa und der A. carotis communis. Nach Anschlingen der V. jugularis und proximaler Ligatur wurde distal über eine quere Inzision der Gefäßwand ein Polyethylenkatheter (PE-50, Innendurchmesser 0,58 mm, Außendurchmesser 0,96°mm, Smiths Medical International Ltd., Kent, England) intraluminal eingeführt und mit einer vorgelegten Ligatur fixiert. Der venöse Katheter diente der Applikation des Anästhetikums Pentobarbital und der Injektion von NaCl-Lösung zur Vermeidung einer Dehydratation. Ähnlich wurde ein weiterer Polyethylenkatheter (PE-50, Innendurchmesser 0,58mm, Außendurchmesser 0,96mm, Smiths Medical International Ltd., Kent, England) in die A. carotis communis eingeführt. Nach Freilegung und proximaler Ligatur wurde das Gefäß zunächst mit einem Gefäßclip verschlossen, welcher nach querer Inzision, Einführen und Fixierung des Katheters wieder entfernt wurde. Der in die A. carotis communis eingelegte Katheter ermöglichte fortlaufende makrohämodynamische Messungen (mittlerer arterieller Blutdruck, Herzfrequenz) zur Überwachung der Narkosetiefe sowie Blutentnahmen. Der mittlere arterielle Druck wurde über einen druckstabilen Katheter auf einen Druckwandler übertragen und auf einem Überwachungsmonitor kontinuierlich

angezeigt. Die Herzfrequenz der Tiere wurde anhand der arteriellen Blutdruckamplituden fortlaufend aufgezeichnet und durch Auszählen der Amplitude an einem Standbild quantifiziert. Nach Abschluss der chirurgischen Maßnahmen am Hals wurde das Operationsfeld auf das Abdomen verlegt. Es wurden eine mediane Längslaparotomie und zusätzlich eine quere Laparotomie bei gleichzeitiger Blutstillung mittels Thermokoagulation (Servoprax® GmbH, Wesel, Deutschland) durchgeführt, um den Zugang zu Leberlappen, -gefäßen und Milz zu erleichtern. Für eine verbesserte Übersicht im Operationsfeld erfolgte die Fixierung der oberen Bauchwand mit Hilfe von auf der Wärmeplatte magnetisch haftenden Wundhaken in kranialer Richtung. Zur Mobilisierung der Leberlappen unter Zuhilfenahme zweier mit physiologischer NaCl-Lösung angefeuchteter Wattestäbchen wurden die Haltebänder der Leber zum Zwerchfell, zum Magen und zum Retroperitoneum vorsichtig durchtrennt. Bei Bewegungen der Leberlappen wurde stets darauf geachtet, dass diese möglichst wenig und vorsichtig berührt werden, um Gewebealterationen durch chirurgische Manipulationen und Traumatisierungen zu minimieren. Zum Schutz der Abdominalorgane wurden diese vorher mit einer in körperwarmer isotoner NaCl-Lösung getränkten Kompresse bedeckt. In den Gruppen 2 und 3 wurden ebenfalls die Haltebänder der Milz zum Zwerchfell, Magen, Retroperitoneum und zum Kolon vorsichtig durchtrennt. Anschließend wurden die ab- und zuführenden Milzgefäße mit einem doppelten Knoten einzeln ligiert und distal davon durchtrennt. Die Leberlappen wurden nach kranial verlagert, so dass die Lebergefäße lokalisiert werden konnten. In der Gruppe 3 wurde zusätzlich die A. hepatica, wie bereits in Set 1 beschrieben, ligiert. Die V. portae wurde vom umgebenden Bindegewebe/Fettgewebe befreit, um ein möglichst störungsfreies akustisches Ultraschallsignal mittels Flussmesskopf (Precision Perivascular Flowprobes, Transonic Systems Inc, Ithaca, NY, USA) zu erhalten. Für die Messung wurde der J-förmige Ultraschallreflektor um die PV geschlungen und der Verschieberiegel geschlossen (Abb. 7). Der Ultraschallsender wurde so positioniert, dass er senkrecht zur V. portae stand. Um eine gute Ultraschallkopplung zwischen Sondenkörper und Sondenreflektor zu gewährleisten, war es von besonderer Bedeutung, ausreichend Ultraschallgel (Sonogel® Vertriebs GmbH, Bad Camberg, Deutschland) auf das Lumen der Sonde aufzutragen. Dies musste ggf. wiederholt werden, um eine adäquate Übertragung gewährleisten zu können. Die Blutflussmessung in der A. hepatica mittels Flussmesskopf erfolgte in der gleichen

Art und Weise, jedoch gab es hier keinen Verschlussmechanismus (Abb. 8), so dass die korrekte Positionierung der Ultraschallsonde nach jedem Operationsschritt erneut erforderlich war. Auch während der Messungen wurde die Leber immer wieder mit physiologischer NaCl-Lösung befeuchtet, um diese vor Austrocknung zu schützen.

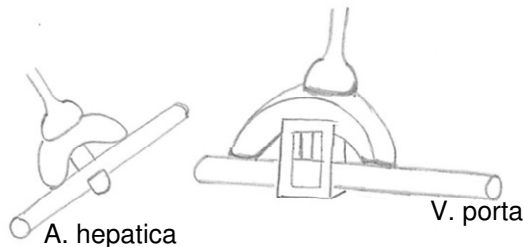


Abb. 7: Schematische Darstellung der verwendeten Flussmessköpfe (V., Vena; A., Arteria).

Die perivaskulären Ultraschallsonden waren mit einem Flowmeter (TS402 Perivascular Flowmeter, Transonic Systems Inc, Ithaca, NY, USA) verbunden. Daraufhin erfolgte die Aufzeichnung der Ausgangswerte der hepatischen Zirkulation. Die Daten der Ultraschallflussmessung wurden online digitalisiert, durch einen A/D-Wandler (LabJack U12; LabJack Corp., Lakewood, CO, USA) an einen Computer weitergeleitet und via Software (DAQFactoryExpress; AzeoTech, Ashland, OR, USA) aufgenommen. Die Oxygenierung des Lebergewebes wurde polarographisch über einen flexiblen Polyethylen Mikrokatheter (Clark Typ, Durchmesser 0,5 mm, Länge 200 mm; Licox Systems, GMSmbH, Kiel-Mielkendorf, Deutschland) gemessen, der im linkslateralen Leberlappen, d.h. die Leberoberfläche penetrierend, platziert wurde. Nach Resektion des linkslateralen Leberlappens wurde der Mikrokatheter zur Messung der Lebergewebeoxygenierung in den verbleibenden Leberlappen positioniert. Zur Messung der Lebergewebetemperatur wurde eine Temperatursonde (Thermocouple Microprobe, Licox Systems, GMX, Kiel-Mielkendorf, Deutschland) zwischen 2 Leberlappen gelegt, um eine weitere Penetration von Leberparenchym zu vermeiden. Nach Ermittlung der Basiswerte erfolgten die oben genannten Messungen ebenso nach Splenektomie, Ligatur der Arteria hepatica als auch nach jedem einzelnen Schritt der pHx (30, 70, 85, 90) für jeweils 30 Minuten. Nachdem die Messungen abgeschlossen waren, wurden die Versuchstiere mittels einer Überdosis Pentobarbital getötet.

3.2.3 Leberregenerationsmodell (Set 3)

Um die Leberregeneration nach Leberteilresektion zu evaluieren, wurden die Versuchstiere im Studienabschnitt 3 (Tab. 1) einer nicht-letalen pHx85 unterzogen.

Die Narkose erfolgte mit der in Set 1 bereits beschriebenen Inhalationsnarkose. Auch hier wurden die Versuchstiere in 3 Gruppen (pHx85, S + pHx85 sowie S + L + pHx85) unterteilt. Sowohl nach 24 Stunden, dem Zeitpunkt der maximalen DNA-Synthese (Bucher und Swaffield, 1964), als auch nach 4 Tagen wurde 5 bzw. 6 Tieren pro Gruppe und Zeitpunkt Blut sowie Lebergewebe für weitere Untersuchungen entnommen. Das Lebergewicht wurde bestimmt, um das Verhältnis von regeneriertem zu präoperativem Lebergewicht $\times 100$ (%) zu ermitteln. Das präoperative Lebergewicht wurde mit 3,5% des KG angenommen.

3.3 Untersuchungstechniken

3.3.1 Blutflussmessung mittels Laufzeitdifferenzverfahren

Die Transit Time Flow Measurement-Methode (Laufzeitdifferenzverfahren) erlaubt die intraoperative Messung des BF in der A. hepatica und in der V. porta. Die hierzu verwendeten Flussmessköpfe sind piezokristallische Wandler. Sie bestehen jeweils aus zwei Transduktoren und einem akustischen Reflektor (Abb. 8). Die Transduktoren sind auf der einen Seite, der Reflektor mittig auf der gegenüberliegenden Seite des Gefäßes positioniert. Die Transduktoren senden und empfangen Ultraschallsignale, die das fließende Blut in und gegen Flussrichtung kreuzen. Die Zeit, die die Ultraschallwelle von einem Transduktor zum anderen benötigt, wird über ein Flowmeter gemessen. Die Laufzeit des Signals mit der Flussrichtung ist kürzer als das Signal gegen die Flussrichtung. Aus der Differenz der Laufzeiten ermittelt das Flowmeter die Fließgeschwindigkeit. Die Laufzeitdifferenz ist direkt proportional zur Fließgeschwindigkeit entlang des akustischen Pfades (Bohl, 2008).

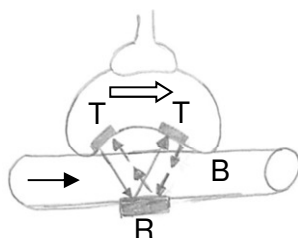


Abb. 8: Schematische Darstellung der Blutflussmessung mittels Ultraschalllaufzeitverfahren (T, Transducer; R, Reflektor; B, Blutgefäß; \rightleftarrows Messrichtung, \rightarrow Blutflussrichtung). Modifiziert nach Transonic System Inc., 2008).

Vor Beginn der Experimente erfolgte eine Kalibrierung der Flussmessköpfe. Hierzu wurden diese vor jedem einzelnen Experiment einige Zeit in stehende NaCl-Lösung getaucht und auf Null kalibriert. Zuerst wurden die Basiswerte ermittelt. Anschließend wurden die Flusswerte nach Splenektomie, nach Ligatur der A. hepatica und nach jedem einzelnen Leberresektionsschritt (pHx30, 70, 85, 90) in den verschiedenen

Versuchsgruppen bestimmt: Hepatektomie alleine (pHx), Splenektomie vor Hepatektomie (S + pHx) sowie Splenektomie, Ligatur der A. hepatica und Hepatektomie (S + L + pHx). Nach jedem Operationsschritt wurde die Blutflussmessung 30 Minuten beibehalten, um stabile Bedingungen für die Aufzeichnung der Flüsse in der V. porta und A. hepatica zu gewährleisten.

3.3.2 Messung des intrahepatischen Sauerstoffpartialdruckes

Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes (pO_2) erfolgte polarographisch über einen Mikrokatheter. Die nach ihrem Entwickler benannte Clark-Typ-Elektrode besteht aus einer Edelmetall- und einer geeigneten Referenzelektrode, die in eine Elektrolytlösung eingetaucht und von einer dünnen Polyethylenmembran, die nur für O_2 durchlässig ist, umgeben sind (Abb. 9).

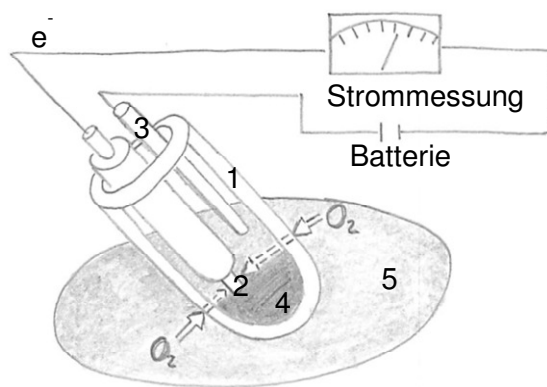
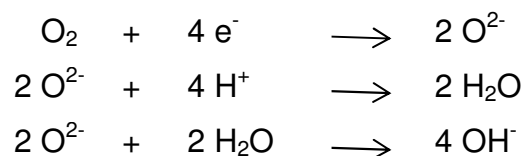


Abb. 9: Schematischer Aufbau der verwendeten polarographischen Licox-Sauerstoffsonde (1: Polyethylenschlauch, Diffusionsmembran; 2: polarographische Gold-Kathode; 3: polarographische Anode; 4: Innenraum mit Elektrolytfüllung; 5: Lebergewebe).

Der Sauerstoff diffundiert aus dem umgebenden Gewebe durch diese Membran und wird an der Kathode reduziert, indem er von ihr Elektronen aufnimmt.



Der so entstehende Redoxstrom lässt sich nach dem Faraday'schen Gesetz für Clark-Typ-Elektroden, die mit einer Membran umgeben sind, berechnen. Der gemessene Strom ist direkt proportional zur O_2 -Konzentration im umgebenden Gewebe und wird mittels eines Analog-Digital-Wandlers digitalisiert und durch einen Computer aufgenommen. Die Redoxreaktion ist temperaturabhängig.

3.3.3 Probeentnahmen und Analysen

Nach Abschluss der Messungen zur hepatischen Hämodynamik wurde den Tieren Blut sowie Lebergewebe für histologische, immunhistochemische und Western Blot Analysen entnommen. Wie oben bereits beschrieben, wurde zusätzlichen Versuchstieren im Rahmen des Regenerationsmodells, 24 Stunden und 4 Tage postoperativ Blut und anschließend Gewebeproben entnommen.

3.3.3.1 Blutentnahmen

Am Ende jedes Versuches wurde den Tieren ca. 2 ml Vollblut aus der Herzkammer entnommen, in Ca^{2+} -EDTA beschichteten Röhrchen asserviert und ein Blutbild erstellt. Anschließend wurde das entnommene Blut für 10 Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert (GS15 Zentrifuge, Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland) und der Überstand (Plasma) bis zur Durchführung biochemischer Analysen bei -20°C aufbewahrt.

3.3.3.2 Gewebeproben

Die entnommene Leber wurde gewogen und danach in kleine Stücke geschnitten. Ein Teil der Leber wurde für nachfolgende molekularbiologische Analysen in Flüssigstickstoff eingefroren und anschließend bei -80°C gelagert. Ein weiterer Teil wurde nach Einbetten in TissueTek (Sakura Finetek Europe B.V., Zoeterwoude, Niederlande) in Flüssigstickstoff schockgefroren, in Alufolie eingewickelt und anschließend bei -20°C für die entsprechenden immunhistologischen Nachweise aufbewahrt. Für histologische Untersuchungen wurde ein Stück Lebergewebe in 4%igem phosphatgepuffertem Formalin für ca. 2-3 Tage fixiert und danach in Paraffin eingebettet. Die Tiere wurden nach Abschluss der Versuche durch Injektion einer Pentobarbital-Überdosis getötet.

3.3.4 Bestimmung leberspezifischer Enzyme

Aspartat-Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT) sind leberspezifische Enzyme, deren Aktivität im Plasma bei Leberzellschädigung erhöht ist. So kann man anhand der Höhe der Aktivität dieser Transferasen eine Aussage über die hepatozelluläre Desintegration machen. AST ist vorwiegend in den Mitochondrien lokalisiert und deutet deswegen bei Erhöhung auf einen stärkeren Leberschaden hin als ein alleiniger Anstieg der zytoplasmatischen ALT. Die Messung der Aktivitäten von AST und ALT im Plasma erfolgte spektrophotometrisch nach Bergmeyer *et al.*

(1978) unter Verwendung des Hitachi 704 Automatic Analysers (Boehringer, Mannheim, Deutschland) und entsprechender Reagenzien (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland).

3.3.5 Histologie

Die entnommenen Gewebeproben wurden für 2-3 Tage bei 4°C in 4%iger phosphatgepufferter Formalinlösung (Carl Roth GmbH & Co. KG) fixiert, in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Paraffin (Granopent[®] „P“, Paraffin in Plättchen, Carl Roth GmbH & Co. KG) eingebettet. Nach Anfertigung von 4 µm dünnen Gewebeschnitten aus diesen Paraffinblöcken wurden diese auf Poly-L-Lysin beschichteten Objektträgern (Objektträger, ca. 76x26mm, Menzel GmbH & Co. KG, Braunschweig, Deutschland) fixiert, entparaffiniert und gemäß Standardverfahren mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt. Anschließend wurden die Schnitte an einem Lichtmikroskop (Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland) mit einer angeschlossenen Digitalkamera (Zeiss AxioCam HRc; Carl Zeiss Jena GmbH, Deutschland) untersucht. Es wurde eine semiquantitative Analyse des Ausmaßes der nekrotischen Zellschädigung (zytoplasmatische Grobscholligkeit, Zellkerndeformation und Vakuolisierung) vorgenommen. Hierfür kamen 15 High Power Fields pro Leberschnitt zur Auswertung. Die Einteilung der genannten Parameter erfolgte in Grade von 0-3 wie folgt:

- Grad 0 = keine (0% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)
- Grad 1 = leicht (<30% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)
- Grad 2 = mäßig (40-70% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)
- Grad 3 = schwer (>70% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)

Die Ergebnisse wurden in Prozent angegeben.

3.3.6 Western Blot

Zur Bestimmung der Expression des Hypoxie-sensitiven Erythropoetin Rezeptor (EpoR) wurden die bei -80°C gelagerten Lebergewebeproben zur Gewinnung von Proteinextrakten gewogen, mit Hilfe eines Dismembrators pulverisiert und anschließend in Lysepuffer homogenisiert (1 M Tris; pH 7,5; 5 M NaCl, 250 mM EDTA, 10% Triton-X 100, 4 % NaN₃, 100 mM Polymethan Sufonylfluorid PMSF), für 30 Minuten auf Eis inkubiert und dann für 15 Minuten bei 10.000 x g zentrifugiert. Vor Verwendung des Lysepuffers wurde dieser mit einem Protease-Inhibitor Cocktail

(1:100 vol/vol; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) versetzt. Der proteinhaltige Überstand wurde abpipettiert und die Proteinkonzentrationen mittels „Bicinchoninic Säure“ (bicinchoninic acid, Pierce, Rockford, IL, USA) Protein Assays mit bovinem Serumalbumin als Standard bestimmt. 40 µg Protein wurden pro Spur auf einem diskontinuierlichen SDS-Polyacrylamid Gel 12% elektrophoretisch nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt und auf eine Polyvinylidendifluorid Membran (Immobilon-P transfer membrane; Milipore, Billerica, MA, USA) übertragen. Nach Blockade unspezifischer Bindungsstellen wurden die Membranen für 120 Minuten bei Raumtemperatur mit dem Primärantikörper (polyclonal rabbit anti-EpoR antibody; 1:200; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) und anschließend für 60 Minuten mit dem entsprechenden Sekundärantikörper (peroxidase-conjugated goat anti-rabbit; 1:20.000, Cell Signalling Technology, Frankfurt, Deutschland) inkubiert. Die Proteinexpression wurde mittels der Chemilumineszenzmethode (ECL plus; Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland) visualisiert, die Signale densitometrisch ausgewertet (Gel Doc XR; Quantity One Software, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) und an den β -Aktin Signalen normiert (mouse monoclonal anti- β -actin, 1:20.000; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland). β -Aktin diente als interner Standard zur Kontrolle für den Einsatz gleichmäßiger Proteinmengen pro Spur.

3.3.7 Immunhistologie

Zur immunhistologischen Analyse von Ki-67, einem Zellproliferationsmarker, wurden die zuvor angefertigten 4 µm Paraffinschnitte zur Demaskierung in der Mikrowelle behandelt und über Nacht mit dem monoklonalen Maus-Antikörper anti-Ki-67 (1:25; Dako Cytomation, Hamburg, Deutschland) bei 4°C inkubiert. Zur Entwicklung der Probenträger wurde anschließend ein zweiter Peroxidase-konjugierter Antikörper (HRP, LSAB kit plus, Dako Cytomation, Hamburg, Deutschland) angewendet, wobei 3,3'-Diaminobenzidin als Chromogen genutzt wurde. Anschließend wurden die Proben mit Hämatoxylin gegengefärbt. Ki-67-positive Hepatozyten wurden unter dem Lichtmikroskop (Axioskop 40; Zeiss, Göttingen, Germany) durch eine Rot-Braunfärbung identifiziert und verblindet quantifiziert. Die Auszählung von jeweils 30 Gesichtsfeldern pro Präparat erfolgte mit dem 40x Objektiv (x40/0.65W), wobei die Ergebnisse in der Einheit Zellen/mm² angegeben werden.

3.4 Statistik

Zur elektronischen Datenverarbeitung wurden die Daten der Ultraschallflussmessung, des pO_2 , der histologischen Schnitte sowie der immunhistochemischen und molekularbiologischen Untersuchungen ermittelt und direkt in Microsoft Excel Tabellen eingetragen. Anhand dieser Daten wurden mittels der Software SigmaPlot (Jandel Corporation, San Rafael, CA, USA) Diagramme erstellt. Alle Daten sind als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) dargestellt. Die statistischen Analysen wurden durch Anwendung der Software SigmaStat (Jandel Corporation, San Rafael, CA, USA) ausgeführt. Bei Normalverteilung der Werte erfolgte der Vergleich zwischen den Gruppen (Set 3) mittels einfaktorieller ANOVA-Analyse mit nachfolgendem Paarvergleich nach Holm-Sidak. Falls eine Normalverteilung der Werte ausgeschlossen werden konnte, erfolgte der Gruppenvergleich mit der Kruskal Wallis Varianzanalyse, gefolgt vom Dunns-Test. Statische Unterschiede der makrohämodynamischen Parameter innerhalb der 3 Gruppen (Set 2) und das Ausmaß der Leberresektion (Set 3) wurden mittels zweifaktorieller ANOVA-Analyse mit anschließendem Post-Hoc-Vergleich bewertet.

Aus Gründen der Klarheit und zum besseren Verständnis werden nur statisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in den Abbildungen dargestellt. Einzige Ausnahme sind Unterschiede in den Gruppen vor der stufenweisen Leberresektion (B, S, L). Hier wurde die einfaktorielle ANOVA-Analyse mit nachfolgendem paarvergleichenden Holm-Sidak angewandt.

Für die Analyse der Daten der Überlebensversuche (Set 1) wurde der Log-Rank-Test angewendet. Anschließend erfolgte der paarweise Vergleich nach Holm-Sidak. Ein Unterschied galt dann als signifikant, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit weniger als 5% ($p < 0,05$) betrug.

4 Ergebnisse

4.1 Überlebensversuche

Um die Letalität zu überprüfen, wurden Überlebensversuche durchgeführt. Hierzu wurden insgesamt 45 Tiere einer pHx90 unterzogen. 30 dieser Tiere wurden vorher splenektomiert und bei 15 dieser Tiere zusätzlich die A. hepatica ligiert. Das 10-Tage-Überleben wurde dokumentiert (Abb. 10).

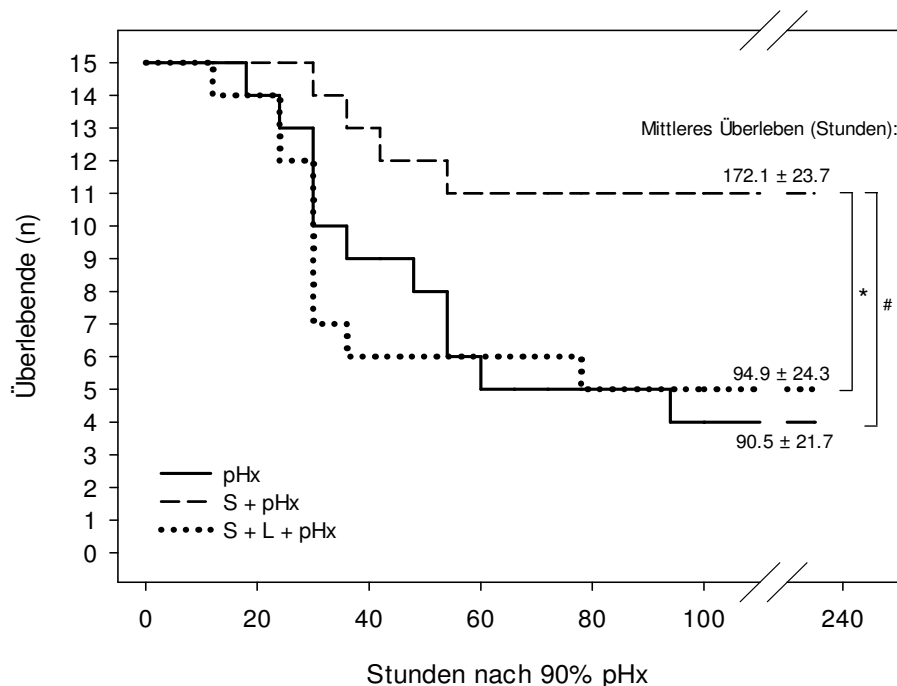


Abb. 10: Überlebenskurven der 10-Tage-Überlebensstudie von Versuchstieren, die einer 90%igen pHx (pHx, n=15), Splenektomie vor 90%iger pHx (S + pHx, n=15) oder einer Splenektomie, Ligatur der A. hepatica und 90%iger pHx (S + L + pHx, n=15) unterzogen wurden. Log-Rank-Test und Post-hoc-Vergleich; #p<0,05 vs. pHx; *p<0,05 vs. S + L + pHx (pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur).

Nur 4 von 15 Tieren überlebten die alleinige pHx90. Die Reduktion des PVBF durch Splenektomie vor pHx90 führte im Vergleich zu alleiniger pHx zu einem deutlich besseren Überleben (11 von 15 Tieren, p = 0,013). Die zusätzliche Ligatur der A. hepatica nach Splenektomie und pHx90 resultierte in einem ähnlichen Ergebnis wie nach alleiniger pHx.

Im Gegensatz zur pHx90 überlebten alle Tiere, die einer pHx85 (Set 3) unterzogen wurden, den Beobachtungszeitraum unabhängig davon, ob eine alleinige pHx, vorherige Splenektomie oder zusätzliche Ligatur der A. hepatica erfolgte.

4.2 Hepatische Makrohämodynamik

Zur Untersuchung des BF in der V. porta und A. hepatica wurde die Transit Time Flow Measurement-Methode (Laufzeitdifferenzverfahren) verwendet. Die Ergebnisse sind grafisch in Abb. 11 zusammengefasst.

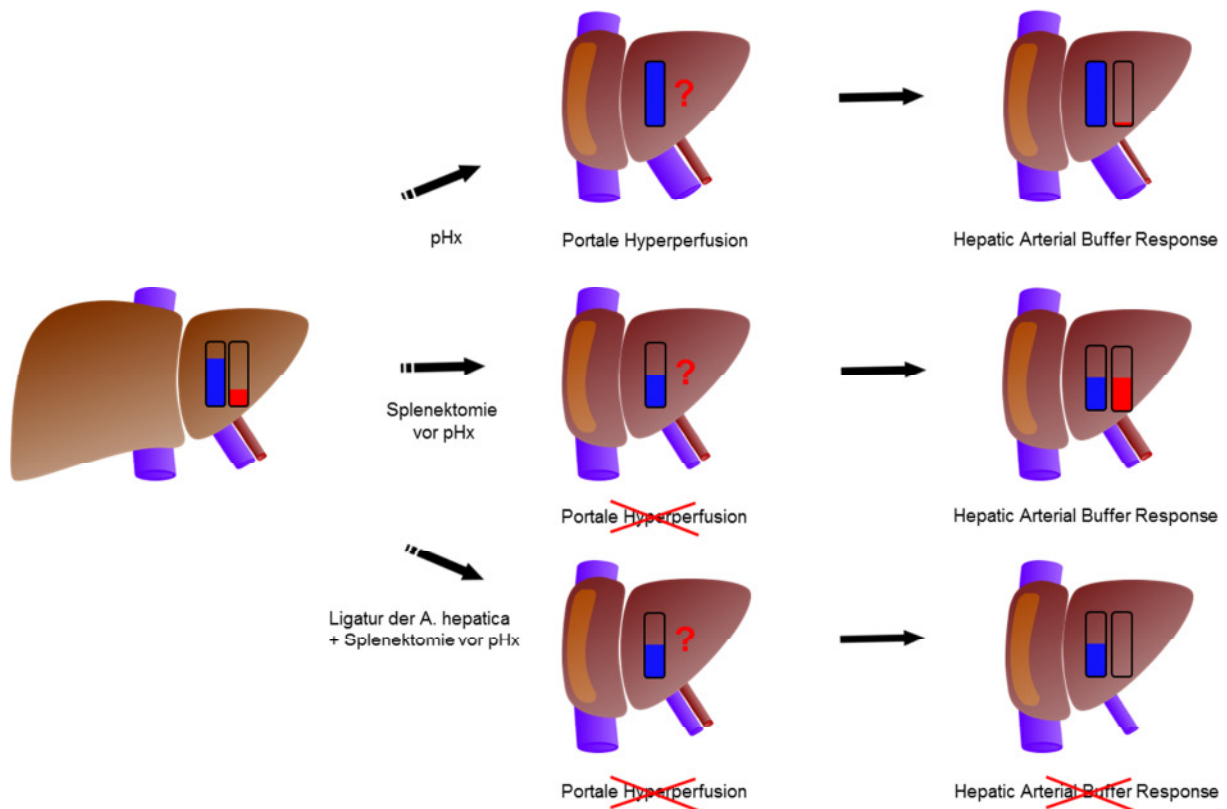


Abb. 11: Schematische Darstellung des Verhältnisses der portalvenösen und hepatoarteriellen Versorgung unter physiologischen Bedingungen sowie nach Hepatektomie, Splenektomie vor Hepatektomie sowie Splenektomie und Ligatur der A. hepatica vor Hepatektomie. Zunächst Darstellung des portalvenösen Blutflusses (Mitte), anschließend zusätzlich des hepatoarteriellen Blutflusses (rechts) (pHx, partielle Hepatektomie).

Alle Tiere der verschiedenen Versuchsgruppen wiesen während des gesamten Versuches einen mittleren arteriellen Druck von 80-120 mmHg und eine Herzfrequenz von 400-450/min auf. Die Ermittlung des gesamten hepatischen BF bei pHx90 resultierte in Werten von $6,0 \pm 1,0$ bei alleiniger pHx, $5,3 \pm 0,8$ bei Splenektomie vor pHx und $4,6 \pm 0,7$ ml/min x g bei Splenektomie und Ligatur der A. hepatica vor pHx (Abb. 12). Bei der Bestimmung der Basiswerte lag der PVBF bei $1,6 \pm 0,1$ ml/min x g (Abb. 13 A) und der HABF bei $0,21 \pm 0,01$ ml/min x g (Abb. 13 B). Splenektomie führte zu einer signifikanten Reduktion im PVBF auf $1,2 \pm 0,1$ ml/min x g (Abb. 13 A) mit

gleichzeitigem signifikanten Anstieg des HABF von $0,31 \pm 0,02$ ml/min x g (Abb. 13 B), was auf die Induktion der HABR zurückzuführen ist. Wie erwartet, resultierte die Ligatur der A. hepatica nach Splenektomie in einem Abfall des HABF auf null (Abb. 13 B), während der PVBF unverändert blieb (Abb. 13 A). Mit zunehmendem Ausmaß der Leberresektion stieg der PVBF in Relation zur Lebermasse bis auf das 4-fache des Basiswertes an (Abb. 13 A). Dieser Anstieg des PVBF beeinflusste den HABF bis zu pHx85 nicht, führte nach pHx90 jedoch zu einem leichten Abfall des HABF (Abb. 13 B). Nach Splenektomie führte die schrittweise pHx zwar auch zu einem Anstieg des PVBF (Abb. 13 A), aber gleichzeitig auch zu einem steilen Anstieg des HABF (Abb. 13 B). Die Ligatur der A. hepatica führte zu einem vergleichbaren Anstieg des PVBF wie in der Gruppe mit Splenektomie ohne Ligatur der A. hepatica, der HABF blieb jedoch durch Ausschaltung der HABR auf null.

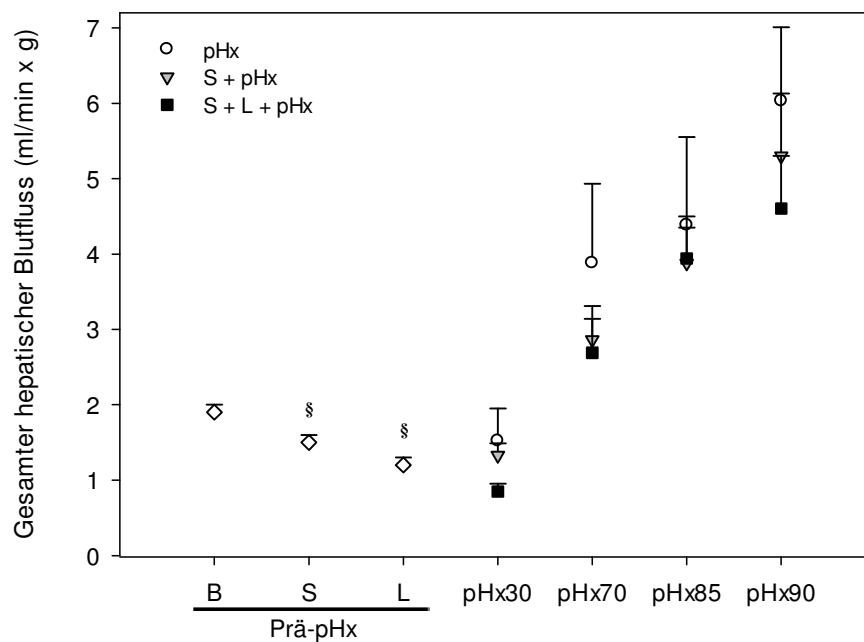


Abb. 12: Kalkulation des gesamten Blutflusses der Leber aus dem portalvenösen und hepatoarteriellen Blutfluss. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm SEM angegeben. Einfaktorielle ANOVA für wiederholte Messungen und Post-hoc-Vergleich; § $p < 0,05$ vs. B (PVBF, portalvenöser Blutfluss; HABF, hepatoarterieller Blutfluss; pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur).

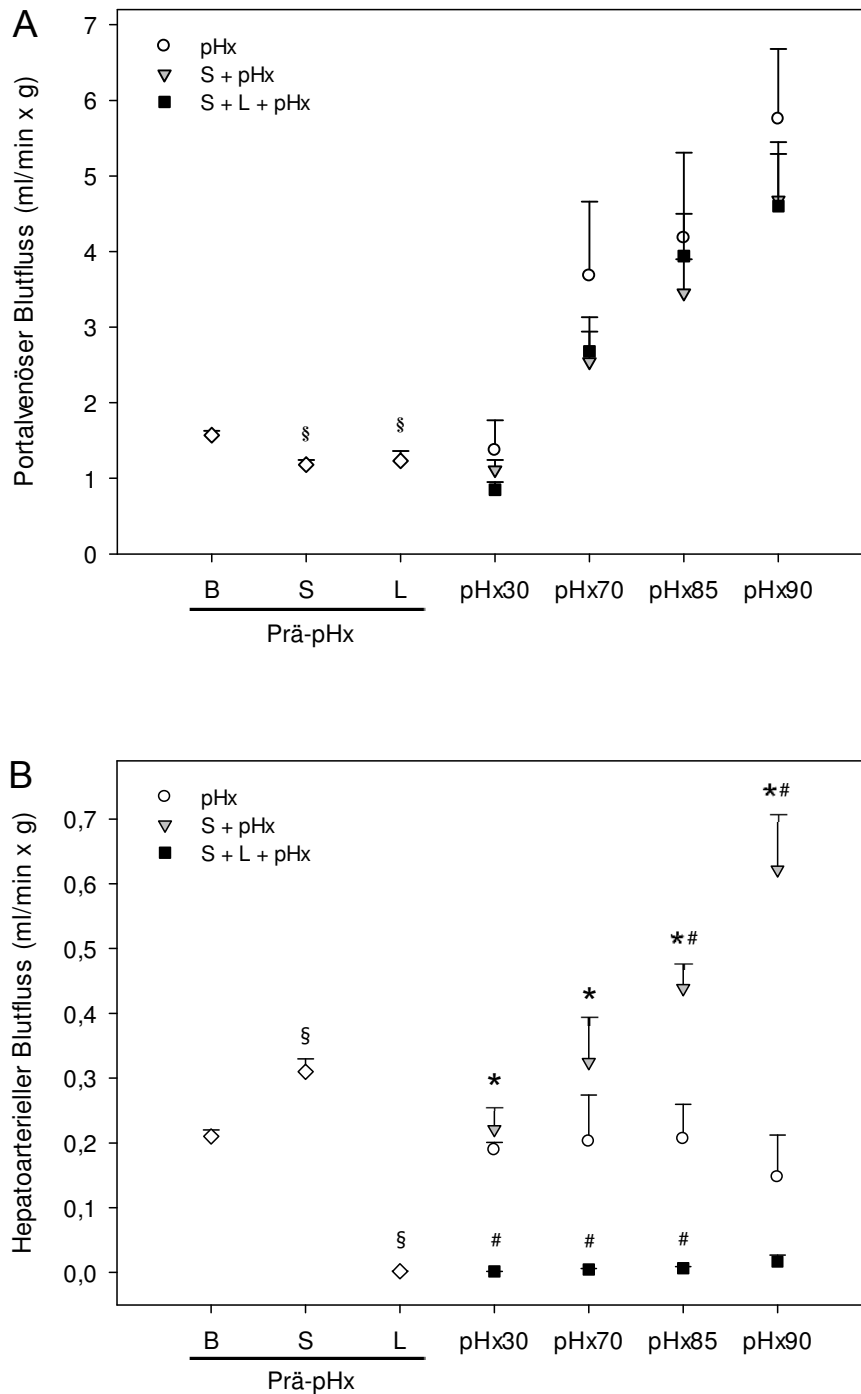


Abb. 13: Ultraschallflussmessungen des portalvenösen (A) und hepatoarteriellen (B) Blutflusses. Zunächst wurden die Basiswerte (B; n=15) ermittelt. Anschließend wurden die Flusswerte nach Splenektomie (S; n=10), nach Ligatur der A. hepatica (L; n=5) und nach jedem einzelnen Leberresektionsschritt (30, 70, 85, 90%) in den verschiedenen Versuchsgruppen bestimmt: Hepatektomie alleine (pHx), Splenektomie vor Hepatektomie (S + pHx) sowie Splenektomie, Ligatur der A. hepatica und Hepatektomie (S + L + pHx). Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm SEM angegeben. Zweifaktorielle ANOVA und Post-hoc-Vergleich; §p<0,05 vs. pHx; *p<0,05 vs. S + L + pHx. Einfaktorielle ANOVA für wiederholte Messungen und Post-hoc-Vergleich; #p<0,05 vs. B (PVBf, portalvenöser Blutfluss; HABF, hepatoarterieller Blutfluss; pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur).

4.3 Intrahepatischer Sauerstoffpartialdruck

Der polarographisch gemessene pO_2 des Lebergewebes war bei Tieren mit Splenektomie auf $23,3 \pm 3,5$ mmHg signifikant erhöht, verglichen mit den Basiswerten von $11,6 \pm 1,1$ mmHg (Abb. 14). Die Ligatur der A. hepatica nach Splenektomie hob den positiven Effekt der Splenektomie auf den intrahepatischen pO_2 auf. Die Werte lagen sogar unter den Basiswerten (Abb. 15)

Bei pHx85 und pHx90 kam es zu einem verminderten pO_2 des Gewebes mit Werten unter 10 mmHg (Abb. 14). Einhergehend mit dem Anstieg des HABF in der Gruppe von Tieren mit Splenektomie vor pHx (Abb. 13 B) beugt die Splenektomie einem Abfall des hepatischen pO_2 vor und garantiert die Aufrechterhaltung von pO_2 -Werten zwischen 19 und 23 mmHg sogar nach ausgedehnter pHx (Abb. 14). Die Ligatur der A. hepatica in splen- und hepatektomierten Tieren resultierte in hepatischen pO_2 -Werten, die niedriger waren als in den nur hepatektomierten Tieren (Abb. 14).

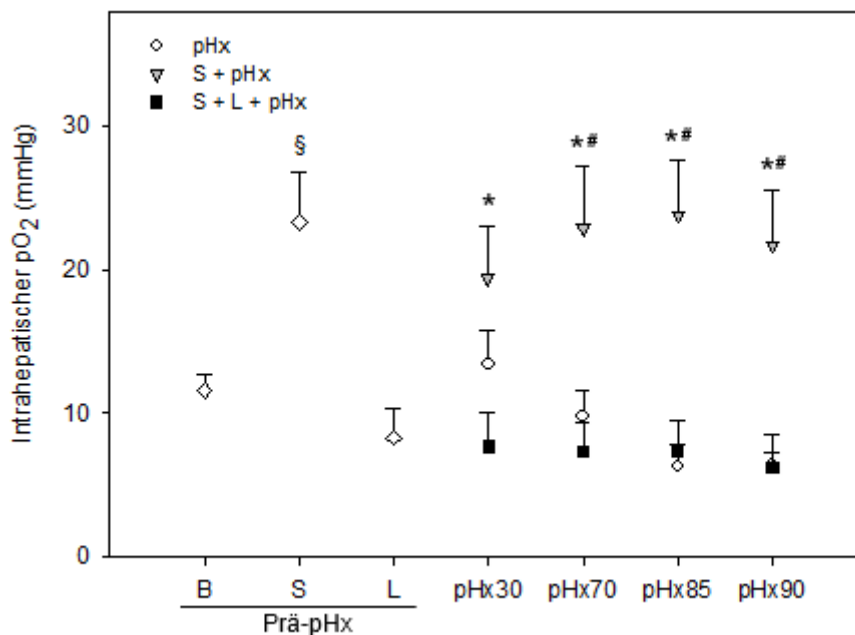


Abb. 14: Intrahepatischer pO_2 bei alleiniger Hepatektomie (pHx), Splenektomie vor Hepatektomie (S + pHx) sowie Splenektomie und Ligatur der A. hepatica vor Hepatektomie (S + L + pHx). Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm SEM von fünf unabhängigen Experimenten pro Gruppe angegeben. Zweifaktorielle ANOVA und Post-hoc-Vergleich; # $p < 0,05$ vs. pHx; * $p < 0,05$ vs. S + L + pHx. Einfaktorielle ANOVA für wiederholte Messungen und Post-hoc-Vergleich; § $p < 0,05$ vs. B (pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur; pO_2 , Sauerstoffpartialdruck).

4.4 Leberregeneration

Zur Untersuchung der Leberzellregeneration wurden die Hepatozyten mit Ki-67 angefärbt. Ki-67 ist ein Proliferationsmarker, der die Zellen im Gewebe anfärbt, die sich vermehren. Tiere, die vor pHx85 splenektomiert wurden, wiesen eine signifikant höhere Anzahl an Ki-67-positiven Hepatozyten ($102 \pm 9/\text{mm}^2$) auf als Tiere, die einer alleinigen pHx ($49 \pm 9/\text{mm}^2$) oder einer Splenektomie sowie Ligatur der A. hepatica vor pHx ($53 \pm 8/\text{mm}^2$) unterzogen wurden (Abb. 15 A und C).

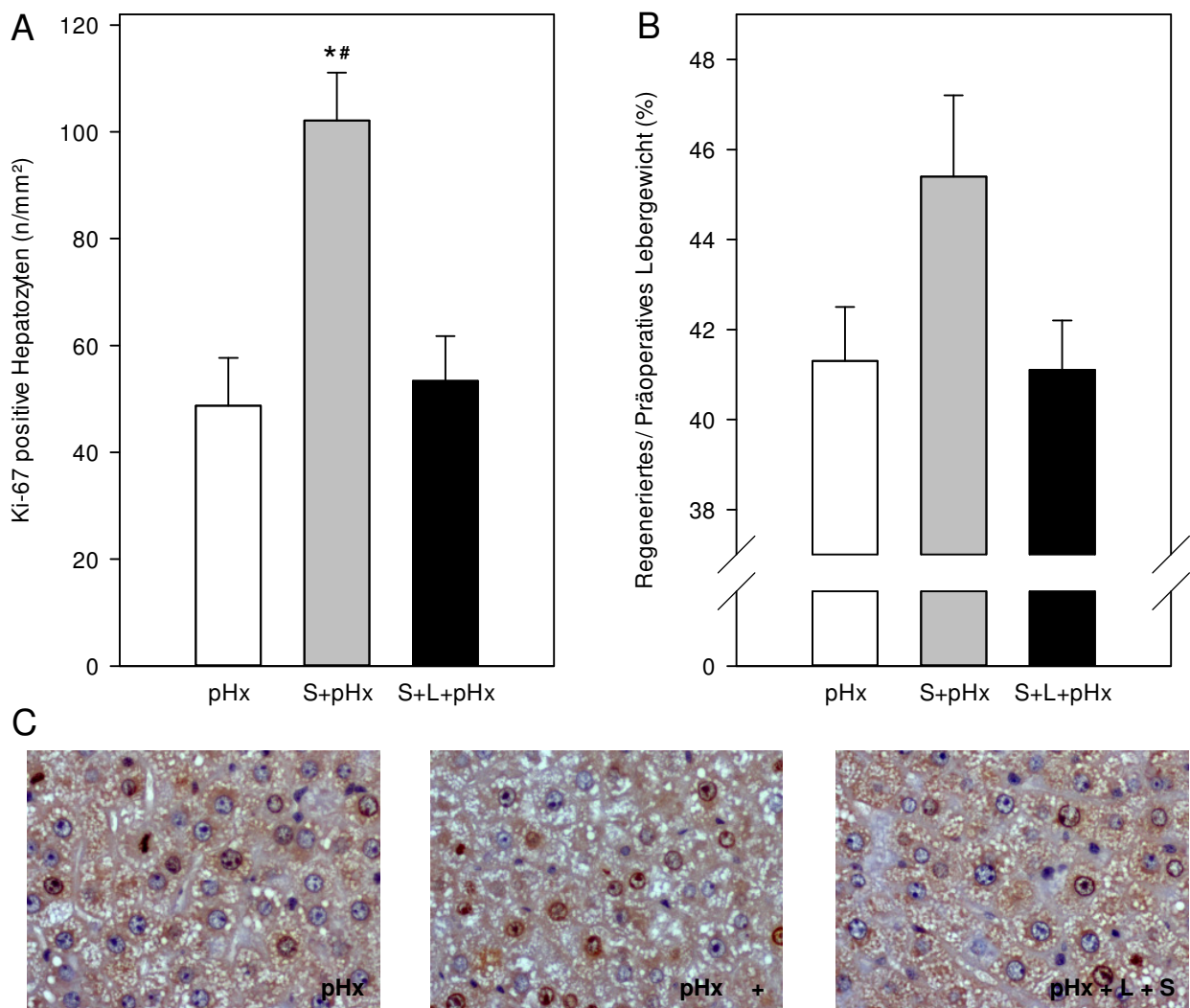


Abb. 15: (A) Quantitative Analyse von Ki-67-gefärbten Leberparenchymzellen sowie (B) Lebergewicht 24 Stunden nach alleiniger 85%iger Hepatektomie (pHx), Splenektomie vor 85%iger Hepatektomie (S + pHx) und Splenektomie sowie Ligatur der A. hepatica vor 85%iger Hepatektomie (S + L + pHx) und (C) repräsentative immunhistochemische Bilder (Originalvergrößerung x 400). Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwerte \pm SEM von 5-6 unabhängigen Experimenten pro Gruppe. Einfaktorielle ANOVA und Post-hoc-Vergleich; #p<0,05 vs. pHx; *p<0,05 vs. S + L + pHx (pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur; SF, Standardfehler; ANOVA, Varianzanalyse).

4.5 Lebergewicht

Im Vergleich zur alleinigen pHx war das regenerierte Lebergewicht in der Gruppe von Tieren mit Splenektomie vor pHx85 24 Stunden und 4 Tage nach Operation deutlich höher als in den anderen beiden Versuchsgruppen (Abb. 15 B). Die zusätzliche Ligatur der A. hepatica hob den positiven Effekt der Splenektomie auf die Regenerationskapazität der Leber wieder auf.

4.6 Hepatozelluläre Integrität

Zur Untersuchung der hepatozellulären Integrität wurden die Aktivitäten der Transaminasen (AST und ALT) 24 Stunden und 4 Tage nach alleiniger pHx85, Splenektomie vor pHx85 und Splenektomie sowie Ligatur der A. hepatica vor pHx85 bestimmt. Aktivitätserhöhungen von AST und ALT im Plasma sind ein wichtiger Befund zur Beurteilung von Lebergewebsschädigungen. 4 Tage nach Operation waren die Enzymaktivitäten sowohl von AST als auch von ALT in der Versuchsgruppe mit Splenektomie vor pHx85 deutlich geringer als in den anderen beiden Gruppen (Tab. 2). Dies entspricht einer geringeren Schädigung des Leberparenchyms und spricht für einen protektiven Effekt der Splenektomie.

Tab. 2: Transaminasenaktivität 4 Tage nach alleiniger 85%iger pHx (pHx), Splenektomie vor 85%iger pHx (S + pHx) sowie Splenektomie, Ligatur der A. hepatica und 85%ige pHx (S + L + pHx). Ergebnisse sind angegeben als Mittelwerte \pm SEM von 5-6 unabhängigen Versuchstieren pro Gruppe (pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur; ALT, Alanin-Aminotransferase; AST, Aspartat-Aminotransferase).

	pHx	S + pHx	S + L + pHx
AST (U/L)	193 \pm 29	132 \pm 11	158 \pm 32
ALT (U/L)	94 \pm 12	66 \pm 5	76 \pm 12

4.7 Molekularbiologie

Mit Hilfe der EpoR-Expression kann eine Hypoxie im Lebergewebe nachgewiesen werden. Übereinstimmend zum erhöhten pO_2 konnte bei Tieren mit Splenektomie vor pHx85 eine geringere hypoxische Antwort nachgewiesen werden, da es zu einer signifikant reduzierten Expression von EpoR kam (Abb. 16).

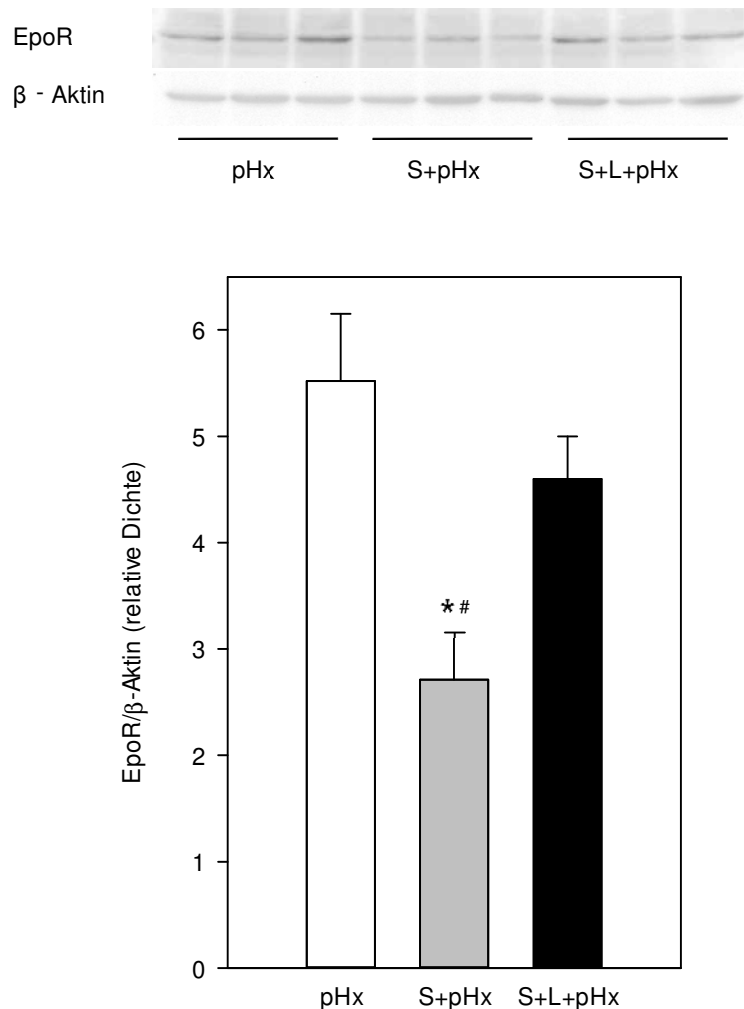


Abb. 16: Repräsentativer Western-Blot und densitometrische Analyse der Expression des Erythropoetin Rezeptors (EpoR) 24 Stunden nach alleiniger 85%iger Hepatektomie, Splenektomie vor 85%iger Hepatektomie (S + pHx) und Splenektomie sowie Ligatur der A. hepatica vor 85%iger Hepatektomie (S + L + pHx). β-Aktin diente als Ladungskontrolle. Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwerte \pm SEM von 5-6 unabhängigen Experimenten pro Gruppe. Einfaktorielle ANOVA und Post-hoc- Vergleich; # $p < 0,05$ vs. pHx; * $p < 0,05$ vs. S + L + pHx (pHx, partielle Hepatektomie; S, Splenektomie; L, Ligatur).

4.8 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die vorliegende experimentelle Studie untersuchte die hepatische Makrozirkulation am etablierten Modell der ausgedehnten Leberresektion an Ratten, um die Rolle der hepatoarteriellen Durchblutung beim SFSS zu untersuchen. Zusammenfassend (Abb. 17) wurden folgende Ergebnisse erzielt:

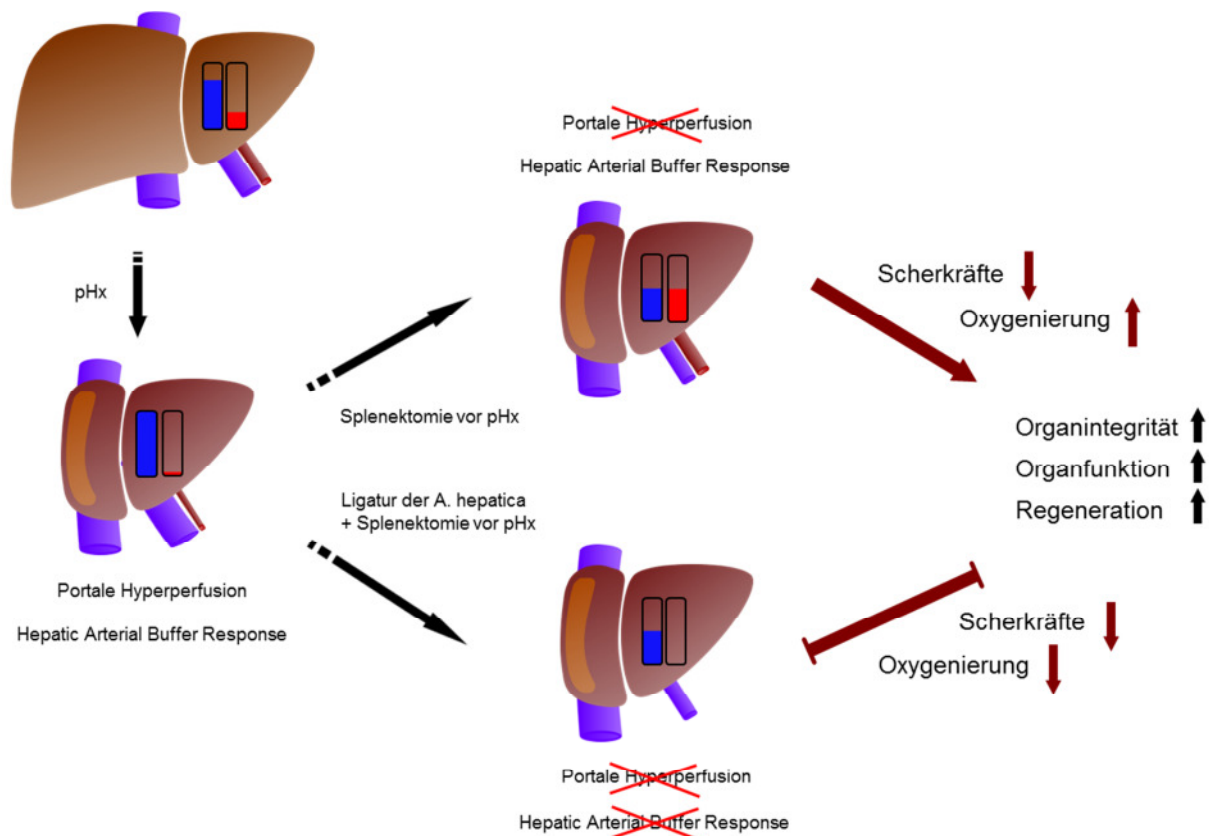


Abb. 17: Schematische Darstellung des Verhältnisses der portalvenösen und hepatoarteriellen Versorgung unter physiologischen Bedingungen sowie nach Hepatektomie, Splenektomie vor Hepatektomie sowie Splenektomie und Ligatur der A. hepatica vor Hepatektomie mit den Auswirkungen der portalen Hyperperfusion und der Hepatic Arterial Buffer Response.

1. Die ausgedehnte Leberresektion führt zu einer portalen Hyperperfusion des verbleibenden Lebergewebes und - bedingt durch die HABR – zur verminderten hepatoarteriellen Durchblutung. Es kommt zum Abfall des pO_2 im Lebergewebe. Die Hypoxie lässt sich anhand der erhöhten EpoR-Expression nachweisen. Die Folgen sind Leberzellschädigung mit vermehrter Freisetzung von Transaminasen, eine verminderte hepatozelluläre Regeneration (geringere Anzahl Ki-67 positiver Hepatozyten) und damit einhergehend ein niedrigeres Lebergewicht sowie schlechteres Überleben.

2. Die Splenektomie vor Hepatektomie hat einen protektiven Effekt. Der PVBF wird reduziert und bewirkt über die HABR eine bessere hepatoarterielle Durchblutung. Es kommt zum Anstieg des pO_2 mit einer geringeren Expression von EpoR. Die positiven Auswirkungen auf die Leberregeneration spiegeln sich in einer vermehrten Proliferation von Hepatozyten und einem erhöhten regenerierten Lebergewicht wider.
3. Die Ligatur der A. hepatica nach Splenektomie vor Hepatektomie hebt den positiven Effekt der Splenektomie auf.

5 Diskussion

5.1 Diskussion des Modells

Standardisierte Tierversuche sind unverzichtbar, um verschiedene Aspekte einer Erkrankung sowie präklinische neue Therapieansätze zu untersuchen. Somit stellen sie ein wichtiges Bindeglied zwischen molekular- und zellbiologischen Untersuchungen einerseits und klinischen Studien andererseits dar (Menger *et al.*, 1999; Wu, 2006).

Nagetiere gehören in der experimentellen Leberchirurgie zu den am meisten verwendeten Versuchstieren (Fausto und Riehle, 2005). Da jeder ihrer Leberlappen über eine eigene portale Triade (je ein Ast der Pfortader, der A. hepatica sowie des Gallengangs) verfügt, sind pHx verschiedenen Ausmaßes einfach durchführbar und vielfach reproduzierbar (Martins *et al.*, 2008). Die Aufzweigung der intrahepatischen Blutgefäße der Ratte ist der des Menschen sehr ähnlich. So können die beim Menschen übliche Einteilung der Segmente nach Couinaud (Couinaud, 1954) für die Ratte übernommen und Leberresektionen vergleichbar durchgeführt werden (Brummer, 2004). Außerdem ähnelt der Prozess der Leberregeneration in Ratten dem der Menschen. Die Ergebnisse lassen sich folglich auf den menschlichen Organismus übertragen (Fausto, 2001). Weitere Vorteile sind ökonomischer Natur. Ratten sind gegenüber Großtieren kostengünstig in der Anschaffung und Haltung, der Futterverbrauch ist niedrig und das Handling einfach. Gegenüber der Maus besitzt die Ratte als Versuchstier den Vorteil einer adäquaten Körpergröße, so dass die technische Durchführung einfacher ist.

Martins *et al.* beschreiben 4 verschiedene Techniken der Leberresektion bei Nagetieren. Die meist verwendete Methode ist die klassische Technik, die sogenannte Ligatur en bloc, bei der die Gefäße und Gallengänge gleichzeitig mit der Resektion des entsprechenden Leberlappens an dessen Basis abgebunden werden. Übrig bleibt ein adäquater Stumpf. Nachteilig bei dieser „Massenligatur“ ist das hohe Risiko für Schädigungen des verbleibenden Lebergewebes, da aufgrund der variablen Verläufe auch andere Gefäße abgebunden werden können. Die gleichzeitige Ligatur der medianen und linkslateralen Leberlappen sollte vermieden werden, da dies zur Stenose der V. cava und zur Leberstauung führen kann (Martins *et al.*, 2008). Die klassische Technik kann sowohl am offenen Abdomen (Cantré *et al.*, 2008; Higgins und Anderson, 1931) als auch laparoskopisch (Kraehenbuehl

et al., 1998) durchgeführt werden. Gegenüber der Laparotomie scheint die Laparoskopie keine Vorteile aufzuweisen. Sie ist jedoch zeitaufwendig und erfordert spezielles kostenintensives Equipment (Martins *et al.*, 2008). Eine weitere Resektionstechnik beinhaltet die Verwendung von Titaniumclips anstelle von Nahtmaterial für die Kompression der Gefäße. Diese Methode lässt sich zwar schneller durchführen, weist aber ähnliche Komplikationen wie die klassische Technik auf (Martins *et al.*, 2008). Zusätzlich wird eine Beeinflussung der Leberregeneration durch das Setzen der Clips beobachtet (Nikfarjam *et al.*, 2004; Schaeffer *et al.*, 1994). Madrahimov *et al.* beschreiben eine an den Gefäßen orientierte, aber nicht mikrochirurgische Technik. Hierbei wird zunächst eine Klemme nahe des Hilus gesetzt und anschließend werden die einzelnen Gefäße unter Beachtung der vaskulären Topographie umstochen, die Klemme wieder gelöst und das Lebergewebe reseziert (Madrahimov *et al.*, 2006). Diese Technik schont das Leberparenchym. Da die einzelnen Gefäße nicht visualisiert werden, kann es bei dieser Technik dennoch zur Schädigung anderer vaskulärer Strukturen kommen (Martins *et al.*, 2008). Im Vergleich zur klassischen Methode ist sie zeitaufwendiger. Abschließend gibt es noch eine an den Gefäßen orientierte mikrochirurgische Technik, die den Methoden der klinischen Leberresektion ähnelt. Hierbei werden die Gefäße visualisiert, die Äste der PV und der Leberarterie vor der Resektion ligiert und die Lebervenen ähnlich der vorherigen Methode während der Parenchymresektion umstochen. Die Vorteile sind eine geringere Rate an Blutungen aus dem Leberstumpf sowie ein reduziertes Risiko einer Vena cava Stenose. Die Nachteile dieser Technik sind jedoch die erforderlichen mikrochirurgischen Fertigkeiten, die Kosten für das notwendige Equipment, das Risiko der Portalvenenverletzung während der Geweberesektion sowie der hohe Zeitaufwand (Kubota *et al.*, 1997).

Das Modell der pHx70 nach der Methode von Higgins und Anderson (Higgins und Anderson, 1931) ist sehr gut etabliert und standardisiert. Ein SFSS wird hier nur noch selten beobachtet. Nahezu 100% der Ratten überleben dieses Resektionsausmaß (Emond *et al.*, 1989). Nach pHx70 in Ratten ist innerhalb von 48 Stunden bereits 50% und innerhalb 1 Woche 100% des Lebergewebes regeneriert (Lautt, 2007). Der HABF ändert sich nach pHx70 nicht; der PVBF verdreifacht sich jedoch (Michalopoulos, 2007). Um die Bedeutung der hepatoarteriellen Durchblutung für das SFSS zu untersuchen, wurde daher eine ausgedehnte Leberresektion (pHx85 und

pHx90) durchgeführt. Die pHx90 nach der Methode von Weinbren und Woodward (Weinbren und Woodward, 1964) führt zu einem deutlich höheren Pfortaderdruck als nach pHx70 (Sato *et al.*, 1997). Modelle mit pHx90 sind in Abhängigkeit von der Operationstechnik zumeist mit einer hohen Mortalität verbunden (Emond *et al.*, 1989; Gaub und Iversen, 1984; Madrahimov *et al.*, 2006; Martins *et al.*, 2008; Weinbren und Woodward, 1964) und eignen sich daher hervorragend zur Analyse der Effekte von therapeutischen Maßnahmen (Madrahimov *et al.*, 2006; Rahman und Hodgson, 2000). So lässt sich an diesem Modell am besten untersuchen, ob der positive Effekt einer Splenektomie vor pHx durch die Reduktion des PVBF oder einer verbesserten hepatoarteriellen Blutzufuhr bedingt ist.

Die pHx85 und pHx90 für die Regenerations- und Überlebensstudie wurden aufgrund der guten Steuerbarkeit mit Hilfe einer Inhalationsanästhesie durchgeführt. Hierfür ist Isofluran bei Nagetieren Mittel der Wahl (Cantwell, 2001). Injektionsnarkosen haben den Nachteil langer Nachschlafphasen, was die Gefahr einer Hypothermie und Hypoglykämie steigert (Kleemann, 1989). Für die Anästhesie der Tiere in Set 2 wurde Pentobarbital in einer Dosis von 50 mg/kg KG verwendet. Für Pentobarbital ist keine Beeinflussung der HABR bekannt (Lautt, 1985; Lautt, 1990), allerdings wurde eine Reduktion des PVBF beschrieben (Seyde *et al.*, 1985), so dass eine basale durch die Anästhesie bedingte Beeinflussung der HABR nicht ausgeschlossen werden kann. Die Auswirkungen auf das kardiovaskuläre (Blutdruckabfall, myokardiale Insuffizienz) sowie respiratorische System (Atemdepression) sind bei Überschreiten der Dosis (Longnecker und Seyde, 1986) nachteilig. Um dem entgegenzuwirken, wurde die Narkose mit Hilfe der Vitalparameter (mittlerer arterieller Blutdruck, Herzfrequenz, Atemfrequenz, Reaktion auf Schmerzreize) gesteuert.

5.2 Diskussion der Untersuchungstechniken

Die Blutflussmessung in der PV und A. hepatica mittels Ultraschall- Laufzeitverfahren stellt eine der Hauptuntersuchungstechniken dieser Studie dar. Diese Methode ist seit 1983 etabliert, verifiziert und gut reproduzierbar (Lundell *et al.*, 1993; Wen *et al.*, 1996). Im Vergleich zu einer Dopplermessung arbeitet das Laufzeitverfahren wesentlich zuverlässiger und genauer. Gegenüber anderen direkten, invasiven Messverfahren, wie der radioaktiven Mikrosphären-Technik (Lee *et al.*, 1986) und der elektromagnetischen Blutflussmessung (Daemen, 1989), ist das Ultraschall-

Laufzeitverfahren überlegen. Zu den Vorteilen zählen die Unabhängigkeit vom elektrischen Umfeld, von der Umgebungsfeuchtigkeit, vom Gefäßdurchmesser, von der Gefäßwanddicke, vom Hämatokrit und von Blutflussturbulenzen. Zudem sind die kleinen Ultraschallmessköpfe nach der Präparation der Gefäße leicht platzierbar und liefern in einem weiten Bereich lineare Flusswerte (Cowan *et al.*, 1988; Wen *et al.*, 1996). Allerdings sind Ultraschall-Flussmesssonden von der Bewegung der Organe abhängig. Diese können jedoch durch eine suffiziente Narkose limitiert werden. Im Vergleich zu den indirekten, nicht-invasiven Methoden, wie die Indocyano- oder Galaktose-Clearance, hat die von uns gewählte Methode den Vorteil, dass der PVBF und HABF selektiv gemessen (Hanna *et al.*, 1988) und sowohl die Richtung als auch schnelle Änderungen des BF erfasst werden können (Schenk *et al.*, 1962).

Der pO_2 hat seinen Nutzen als sensitiver Parameter der Gewebepfusion bereits umfangreich unter Beweis gestellt (Hofer *et al.*, 1994; Jonsson *et al.*, 1987; Pianim *et al.*, 1993). Er ist ein direktes Maß für den der Zelle zur Verfügung stehenden O_2 . Die polarographische O_2 -Sonde von Licox ist ein Standardsystem für die Messung der Gewebeoxygenierung. Die Messung zeichnet sich durch ihre leichte Durchführbarkeit und hohe Reliabilität aus. Der Sensor misst ein zum pO_2 proportionales Stromsignal in der Tiefe des Gewebes und erlaubt daher die Beurteilung der Leberlappenperfusion. Durch das Einbringen der O_2 -Sonde in den Leberlappen wird jedoch ein Gewebetrauma gesetzt. Dadurch können kleine Gefäße verletzt werden, so dass Erythrozyten in das Gewebe auswandern und die pO_2 -Werte überschätzt werden. Andererseits kommt es zur Kompression der Kapillaren und damit zu einer Unterschätzung der pO_2 -Werte. Diese Artefakte heben sich teilweise gegenseitig auf (Schramm *et al.*, 1990). Fleckenstein *et al.* kamen zu dem Schluss, dass die Messergebnisse der Nadelelektrode, verglichen mit einer Oberflächensonde, eher dem physiologischen pO_2 entsprechen (Fleckenstein *et al.*, 1990). Die von Licox verwendeten polarographischen Kathetermikrosonden zeichnen sich durch ihre weiche, flexible Beschaffenheit aus, schmiegen sich dem Gewebe an und reduzieren dadurch das Gewebetrauma. Der Hersteller weist darauf hin, dass das lokale Mikrotrauma die Messwerte etwa 10-20 Minuten beeinflusste. Nach dieser Stabilisierungsphase, welche wir ebenfalls bei unseren Messungen berücksichtigt haben, sind die gemessenen Werte aber für das Gewebe repräsentativ. Sobald die Sonde ins Gewebe eingeführt wurde, ist der Messort der Sonde festgelegt. Damit hängt die Aussagekraft der gemessenen Werte davon ab, wie repräsentativ die O_2 -

Versorgung an diesem Ort für das gesamte Lebergewebe ist. Der pO_2 ist im Gewebe stark von der Lokalisation der Messsonde abhängig. Gefäßnahe Areale sind durch einen im Vergleich zu gefäßfernen Arealen höheren pO_2 -Wert charakterisiert (Eckelt *et al.*, 1994; Schultze-Mosgau *et al.*, 1995).

Zur Untersuchung der hepatozellulären Integrität wurden die Aktivitäten der Lebertransaminasen ALT und AST herangezogen. Bei einer Leberzellschädigung kommt es zur vermehrten Freisetzung dieser Enzyme ins Plasma. Die Höhe des Enzymanstieges korreliert mit dem Ausmaß der Leberzellschädigung. AST ist sowohl im Zytosol als auch in den Mitochondrien vorhanden, ALT dagegen ausschließlich im Zytosol. Folglich lassen sich bei einer schwergradig gestörten hepatozellulären Integrität, wie z. B. der Zellnekrose, neben zytoplasmatischen Enzymen auch mitochondriale Enzyme im Plasma nachweisen. Die Aktivitäten der zytoplasmatischen Enzyme im Plasma spiegeln eine akute Hypoxie-bedingte Freisetzung wider, die aber nicht unabdingbar auf einen Zelltod schließen lässt (Kamiike *et al.*, 1989; Nishimura *et al.*, 1986). Da es auch bei reversiblen Zellschädigungen zur vesikulären Freisetzung zytoplasmatischer Enzyme kommt, können diese auch zum Nachweis eines akuten Zellschadens herangezogen werden. Desweiteren eignet sich die Expression von EpoR gut zum Nachweis einer Hypoxie, da ein niedriger pO_2 die Aktivierung von hypoxia-inducible factor (HIF-1) steigert. HIF-1 bindet an cis-acting DNA hypoxia response elements, was zur Transkription Hypoxie-sensibler Gene wie EpoR, VEGF und glykolytischer Enzyme führt (Wang *et al.*, 1995).

5.3 Diskussion der Ergebnisse

Das SFSS wird durch eine Reihe unterschiedlicher Faktoren bedingt. Eine entscheidende Bedeutung hat die Transplantatgröße. Wenn die Größe des transplantierten Lebergewebes kleiner 40% oder die GRWR kleiner 0,8% ist, so kommt es zu einer kritischen portalen Hyperperfusion (Kelly *et al.*, 2009). Andererseits wurden bereits kleinere Transplantate erfolgreich (Nishizaki *et al.*, 2001) und größere Transplantate ohne Erfolg transplantiert (Demetris *et al.*, 2006). Zahlreiche Studien demonstrieren, dass der nach pHx durch die portale Hyperperfusion zunehmende Scherstress einer der Hauptgründe, wenn nicht sogar der initiale Auslöser für das SFSS ist (Dahm *et al.*, 2005; Demetris *et al.*, 2006; Glanemann *et al.*, 2005; Kelly *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 1987; Troisi *et al.*, 2003). Allerdings reagieren SFS Transplantate auf den starken Anstieg des PVBF auch mit

einem deutlichen Abfall des HABF, was als HABR bezeichnet wird (Kelly *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 1987; Troisi *et al.*, 2003). Dieses Phänomen konnten wir ebenfalls in unseren Untersuchungen bei pHx90 beobachten.

Die Rolle der A. hepatica wurde in der Pathophysiologie des SFSS lange ignoriert, obwohl viele Faktoren für eine wichtige Bedeutung des veränderten HABF in der SFS Leber sprechen: erhöhte Anzahl biliärer Komplikationen (Bonney *et al.*, 2008; Freise *et al.*, 2008; Shah *et al.*, 2008), hepatoarterieller Thrombosen (HAT) (Freise *et al.*, 2008; Sakamoto *et al.*, 1999) und prolongierte Cholestase (Kiuchi *et al.*, 2003; Nishizaki *et al.*, 2001; Shimamura *et al.*, 2001). In einer Studie, in der Empfängern der rechte Leberlappen transplantiert wurde, stieg der Anteil des Pfortaderflusses am gesamten hepatischen BF auf 90-97%, der Anteil der Leberarterie sank reziprok auf 3% (Kelly *et al.*, 2009). Ezzat und Lautt berichteten, dass die maximale Konstriktion der A. hepatica auftritt, wenn der PVBF zweifach höher ist als unter physiologischen Bedingungen (Ezzat und Lautt, 1987). Kelly *et al.* zeigten erstmalig im Schweinemodell, dass es in der SFS Leber in der frühen postoperativen Phase zu einer anhaltenden Vasokonstriktion der A. hepatica kommt, die es ihr nicht ermöglicht, auf Veränderungen im PVBF zu reagieren. Dies führt kurzfristig zu biliärer Ischämie, zentrilobulärer mikrovaskulärer Steatosis und Nekrose (Kelly *et al.*, 2009). Die Ergebnisse spiegeln sich auch in einer Studie zu adult-to-adult living donor liver transplantation-Empfängern mit SFSS wieder. Demetris *et al.* beschrieben 2006 eine Art funktioneller Dearterialisierung durch die mit der portalen Hyperperfusion einhergehenden Blutflussdrosselung in der A. hepatica (Demetris *et al.*, 2006). Die Konsequenzen einer isolierten hepatoarteriellen Ischämie sind im Sinne einer HAT gut untersucht (Abbasoglu *et al.*, 1998; Henderson *et al.*, 1992; Payen *et al.*, 1990). Die HAT führt zu einer Ischämie der Gallengänge mit Cholestase, biliären Strikturen, Nekrose und Abszessen (Howden *et al.*, 1989; Rogers *et al.*, 2001). Die HAT ist die häufigste vaskuläre Komplikation nach Lebertransplantation mit einer Inzidenz von 2,6-9% bei Erwachsenen und 10-33% bei Kindern (Olausson *et al.*, 1999; Stange *et al.*, 2003). Sie ist nach der primären Nichtfunktion die zweithäufigste Ursache für ein Transplantatversagen (Grodzicki *et al.*, 2011). Die HAT ist eine lebensbedrohliche Komplikation nach Lebertransplantation und mit einer hohen frühpostoperativen Sterblichkeit von 58% (Singhal *et al.*, 2010) vergesellschaftet, wenn nicht sofort ein neues Organ transplantiert wird. Diese Option ist aber aufgrund der sinkenden Zahl von Organspendern limitiert (DSO Jahresbericht 2013, 2014;

Grodzicki *et al.*, 2011). Diverse Studien zeigten, dass die zügige Revaskularisierung mit Thrombektomie, Thrombolyse, Gefäßersatz (Rogers *et al.*, 2001) oder durch Stentimplantation (Boyvat *et al.*, 2008; Grodzicki *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2006) zum Erhalt des Lebertransplantates und höherer Überlebensrate führte.

Nach pHx benötigen die verbleibenden Hepatozyten genügend Energie, um zum einen ihre eigentliche Funktion auszuführen und zum anderen die verlorene Lebermasse mittels Zellproliferation zu restorieren (Michalopoulos und DeFrances, 2007). Aufgrund des gesteigerten Metabolismus und der vermehrten DNA-Synthese benötigt die regenerierende Leber große Mengen an O₂ (Kainuma *et al.*, 1992; Yoshioka *et al.*, 1998). Portalvenöses Blut hat eine geringere O₂-Konzentration im Vergleich zum arteriellen Blut. Nach pHx kommt es zu einem relativen Anstieg des PVBF pro Lebergewebseinheit, was zu einem Abfall des pO₂ im Lebergewebe führt (Michalopoulos, 2007). Dies führt zu einer hypoxischen Antwort, welche wiederum als Auslöser der regenerativen Antwort in Betracht gezogen wird (Michalopoulos, 2007). Andererseits wird ein zusätzlicher suboptimaler HABF möglicherweise in der SFS Leber wenig toleriert und erhöht das Risiko einer Leberfunktionsstörung bis hin zum Organversagen (Yoshioka *et al.*, 1998; Michalopoulos, 2010; Fondevila *et al.*, 2010). Daher werden Mechanismen untersucht, welche zur besseren O₂-Versorgung der Leber führen. Die Erhöhung des O₂-Angebotes mittels Arterialisierung der PV oder Atmung von hyperbarem O₂ vor und nach pHx wurde bereits als potenzielle Methode beschrieben, um die Regeneration nach pHx zu steigern (Nardo *et al.*, 2006; Shimizu *et al.*, 2000; Tolentino *et al.*, 2006). Shimizu *et al.* unterteilten ihren Versuch in 3 Gruppen mit je 12 Ratten: pHx85, Arterialisierung der PV vor pHx85 und Ligatur der A. hepatica vor pHx85. Die Arterialisierung führte zu einer signifikant höheren Überlebensrate (11 von 12 Ratten) nach 10 Tagen mit deutlichem Anstieg von pO₂ und ATP sowie höherem regenerativen Lebergewicht im Vergleich zu der Kontrollgruppe (7 von 12 Ratten) und der Gruppe mit Ligatur der A. hepatica vor pHx85 (5 von 12 Ratten). Der portalvenöse Druck und BF waren 10 Tage nach Arterialisierung signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Shimizu *et al.*, 2000). Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen die in der vorliegenden Arbeit erzielten Resultate. Sie unterstreicht die Bedeutsamkeit des gleichzeitigen Vorhandenseins von Scherstress und hohem O₂-Angebot für die Leberregeneration. Yoshioko *et al.* behaupten sogar, dass die Intensität der Leberregeneration proportional zum O₂-Verbrauch/Bedarf der Leber ist (Yoshioko *et al.*, 1998).

Verschiedene Studien berichteten bereits über die Effektivität der hyperbaren O₂ (HBO)-Therapie bei akutem Leberversagen und persistierender Hyperbilirubinämie (Ponikvar *et al.*, 1998; Mazariegos *et al.*, 1999). Bei der HBO-Therapie wird dem Körper 100% reiner O₂ unter Zuhilfenahme von Überdruck (mind. 1 bar) in einer Druckkammer zugeführt (Grim *et al.*, 1990), so dass das Gewebe besser mit O₂ versorgt wird. Tolentino *et al.* demonstrierten im Rattenmodell nach Higgins und Anderson, dass die HBO-Therapie zu einem erhöhten Lebergewicht mit gesteigerter DNA-Synthese 24 und 48 Stunden nach pHx70 führt. Die im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere Leberregeneration ging ohne Anstieg von AST und ALT einher, so dass zudem von einem protektiven Effekt der HBO-Therapie auf das verbleibende Lebergewebe nach pHx ausgegangen werden kann. Verglichen mit der Pfortaderarterialisierung ist die HBO-Therapie weniger invasiv (Tolentino *et al.*, 2006). Zahlreiche weitere Studien unterstützen den positiven Effekt der HBO-Therapie auf die Leberregeneration sowohl im Tierversuch (Mori *et al.*, 2007) als auch im Menschen (Suehiro *et al.*, 2008). Dieser lässt sich möglicherweise auf die erhöhte ATP-Produktion und die Induktion von Hitzeschockproteinen (HSP), wie HSP70 und Hämoxxygenase-1 (HO-1) (Mori *et al.*, 2007; Morimoto und Santoro, 1998) zurückführen. So demonstrierten Shi *et al.*, dass die Leberregeneration nach Gabe eines HSP-Inhibitors unterdrückt wird (Shi *et al.*, 2007). Schuett *et al.* berichteten über einen Anstieg der Zahl an PCNA- und BrdU-positiven Zellen nach Induktion von HO-1 (Schuett *et al.*, 2007). Nach Thom und Hink *et al.* verbessert die HBO-Therapie die hepatische Mikrozirkulation aufgrund reduzierter Endothelzell-schwellung und Inhibition der Adhäsion von Neutrophilen, die zur Vergrößerung des Gefäßdurchmessers führen (Thom, 2004). Weitere Beobachtungen sind die unter HBO-Therapie reduzierte Expression von ICAM-1 in Endothelzellen (Buras *et al.*, 2000) und von CD11/18 in Neutrophilen (Larson *et al.*, 2000), die verminderte Produktion von TNF- α und IL-1 (Lahat *et al.*, 2000) sowie die Modulation der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und deren Effekte (Tran *et al.*, 2012). Das Risiko einer Organdysfunktion durch Ischämie, Präservierung oder einen Reperfusionsschaden (IPRI) ist besonders hoch bei Splitlebertransplantationen und Lebendleberspenden aufgrund einer grenzwertigen oder zu kleinen Transplantat-größe. Die HBO-Therapie reduziert Gewebeschädigungen durch IPRI und verbessert die Transplantatfunktion (Muralidharan und Christophi, 2007). Für den Erfolg der HBO-Therapie ist ein gewisser Grad an BF erforderlich. Die duale Blutversorgung der Leber erklärt

möglicherweise den Erfolg der HBO-Therapie bei einer HAT. Das mit O₂ angereicherte Blut wird über die intakte PV der dearterialisierten Leber zugeführt und im Gewebe gelöst. Das mag auch die Begründung dafür sein, dass der einzige Patient, der trotz HBO-Therapie ein Leberversagen mit ausgedehnten hepatischen Nekrosen entwickelte, sowohl eine Thrombose der PV als auch der A. hepatica hatte (Mazariegos et al., 1999).

Die Auswirkungen der hämodynamischen Änderungen nach pHx auf das restliche Lebergewebe und hier insbesondere der Einfluss des O₂-Angebotes auf die Leberregeneration/-degeneration sind bisher nur unzureichend verstanden. Es existieren bereits verschiedene chirurgische und pharmakologische Verfahren, mit deren Hilfe sich die hepatische Hämodynamik beeinflussen lässt (Abb. 18):

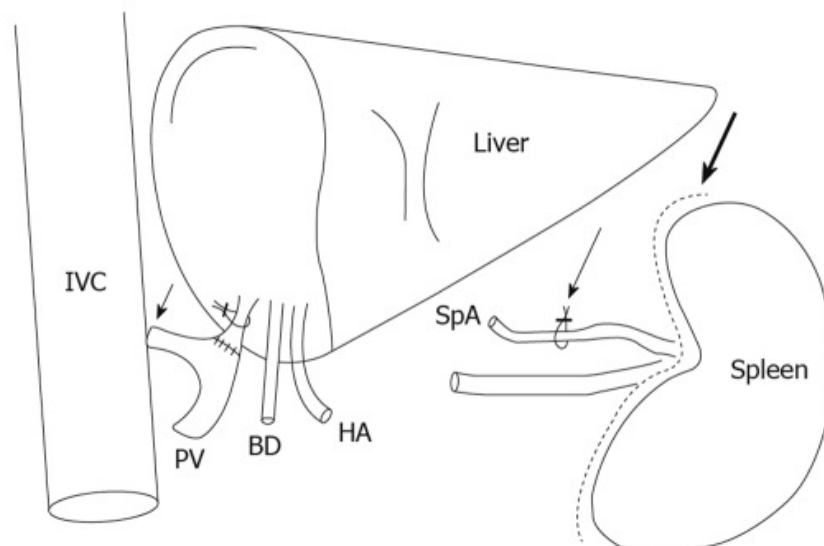


Abb. 18: Chirurgische Methoden zur Modulation des hepatischen Bluteinstroms: portocavaler Shunt (kurzer Pfeil), Ligatur der A. splenica (langer dünner Pfeil) und Splenektomie (langer dicker Pfeil) (BD: Bile duct; HA: Hepatic artery; IVC: Inferior vena cava; PV: Portal vein; SpA: Splenic artery). Eipel *et al.*, 2010.

(1.) Das Prinzip der Pfortaderembolisation besteht darin, die PV der Leberresektionsseite zu embolisieren. Dies führt zu einer Hypertrophie des geplant verbleibenden Leberparenchymrestes (future liver remnant, FLR) und zur Atrophie der Embolisationsseite (Sakuhara *et al.*, 2012). Angewendet wird dieses Verfahren, wenn der FLR < 30% des Leberparenchyms beträgt (Mise *et al.*, 2013). Nachweislich

erhöht sich durch die Pfortaderembolisation die Überlebensrate nach ausgedehnter Hepatektomie (Makuuchi *et al.*, 1990; Mise *et al.*, 2013; Sakuhara *et al.*, 2012).

(2.) Die Ligatur oder Embolisation der A. splenica wird verwendet, um das Milzarterien-Steal-Syndrom zu verhindern. Dieses ist gekennzeichnet durch eine arterielle Hypoperfusion der Transplantatleber mit zeitgleicher Hyperperfusion der Milz (Fuchs *et al.*, 2012). Das Blut aus der A. hepatica wird als Folge einer aktiven HABR in die Arterien von Milz und Gastrointestinaltrakt verschoben (De Carlis *et al.*, 1993; Geissler *et al.*, 2002; Nüssler *et al.*, 2003; Manner *et al.*, 1991). Die Embolisation der Milzarterie reduziert den Widerstand der A. hepatica, indem der BF in den Milzgefäßen und der PV gesenkt wird (Quintini *et al.*, 2008). Die prophylaktische Ligatur der Milzarterie wird für alle Patienten, die ein erhöhtes Risiko haben, ein Milzarterien-Steal-Syndrom zu entwickeln, empfohlen (Mogl *et al.*, 2010). Wird postoperativ ein Milzarterien-Steal-Syndrom diagnostiziert, dann wird die Coil-Embolisation angeraten (Fuchs *et al.*, 2012; Mogl *et al.*, 2010). Die Modulation des PVBF des Empfängers durch Ligatur oder Embolisation der Milzarterie führt zu einem Anstieg des HABF mit verbesserter Leberfunktion (Lo *et al.*, 2003; Troisi *et al.*, 2003; Umeda *et al.*, 2007). Die Tatsache, dass sowohl das Milzarterien-Steal-Syndrom als auch das SFSS erfolgreich mittels Coil-Embolisation der Milzarterie behandelt werden können, unterstreicht, dass beide Syndrome pathophysiologisch an die HABR geknüpft sind (Eipel *et al.*, 2010; Akamatsu *et al.*, 2014).

(3.) Die Splenektomie reduziert den PVBF und führt zu einem besseren Outcome bei Patienten (Glanemann *et al.*, 2005, Yoichi *et al.*, 2014) mit einer graft weight-to-standard liver weight ratio < 40% (Yoshizumi *et al.*, 2008). Akamatsu *et al.* beobachteten eine maximale Reduktion des PVBF um 28% und einen maximalen Anstieg des HABF um 31% nach simulierter Splenektomie in einer klinischen Studie an 40 Probanden (Akamatsu *et al.*, 2014).

(4.) Mit Hilfe eines Portocavalen Shunt/Mesocavalen Shunt: wird eine Verbindung der PV oder der V. mesenterica superior zur V. cava hergestellt, um den nach erweiterter pHx deutlich erhöhten PVBF ins zentrale Venensystem umzuleiten (Fukuchi *et al.*, 1999). Dies sind ebenso etablierte Techniken, die möglicherweise nicht nur die portale Hyperperfusion mindern, sondern mittels HABR zu einem Anstieg des HABF führen (Boillot *et al.*, 2002; Boillott *et al.*, 2003, Burchell *et al.*, 1976; Maillard *et al.*, 1970; Taniguchi *et al.*, 2007; Troisi *et al.*, 2003).

(5.) Der potenteste Vasodilatator ist Adenosin, welches über P1-Purinrezeptoren (A2 Subtyp) vasodilatatorisch auf Gefäßmuskelzellen wirkt (Fredholm, 2001). Kelly *et al.* demonstrierten in einem Schweinemodell, dass die direkte Adenosininfusion die Vasokonstriktion der A. hepatica aufhob, den arteriellen BF signifikant erhöhte, die pathologischen Veränderungen im Transplantat minderte und zu einer höheren Überlebensrate führte (Kelly *et al.*, 2009). Adenosin eignet sich besonders gut, um den isolierten Effekt auf den HABF zu untersuchen, weil es den PVBF nicht beeinflusst (Lautt und Legare, 1986).

(6.) Ein weiterer bedeutsamer Vasodilatator ist Stickstoffmonoxid (NO), ein hochdiffusibles Gas, welches die Zellmembran leicht überwinden und so durch das Endothel in das Zytoplasma nahegelegener Gefäßmuskelzellen diffundieren kann. Als Aktivator der Guanylatzyklase wirkt es relaxierend auf die glatte Muskulatur (De Rubertis und Craven, 1976; Ignarro, 1981). Cantré *et al.* untersuchten die Wirkung von Molsidomin auf die Hämodynamik, Regeneration, Funktion und Zellschädigung nach pHx85 in Ratten. Molsidomin wird in der Leber enzymatisch zu dem aktiven Metaboliten 3-Morpholino-Sydnominin umgewandelt, der NO freisetzt. Die pHx85 führte sowohl in der Kontrollgruppe (pHx85 und Zufuhr gleicher Mengen NaCl 0,9%) als auch in der Gruppe mit pHx85 und Substitution von Molsidomin zu einem zweifachen Anstieg des PVBF. Allerdings reduzierte Molsidomin den Abfall des HABF im Vergleich zur Kontrollgruppe und der Gruppe mit Substitution von L-NAME, einem NO-Synthase-Inhibitor. Der HABF entsprach dem BF der Shamgruppe (keine pHx85). Die Substitution von Molsidomin führte folglich zu einem adäquaten HABF, ohne die portale Hyperperfusion und den damit einhergehenden Scherstress zu mindern. Die mit Molsidomin behandelten Tiere wiesen aufgrund der verbesserten hepatoarteriellen Hämodynamik mit gesteigerter O₂-Zufuhr weniger Zellschädigung und damit einhergehend eine bessere Leberfunktion und –regeneration auf (Cantré *et al.*, 2008). Andererseits gilt NO auch als zytoprotektiv und regenerationsfördernd (Li und Billiar, 1999; Schoen *et al.*, 2001). In einem Rattenmodell mit pHx85 verminderte die Substitution von NO den Abfall des HABF und bewirkte sowohl eine signifikant größere Zellproliferation als auch eine verbesserte Leberfunktion (Cantré *et al.*, 2008). Nach pHx kommt es zu einem Ungleichgewicht der vasoaktiven Mediatoren. So wird z. B. vermehrt Endothelin-1, ein potenter Vasokonstriktor, freigesetzt. Durch die Blockade des Endothelin-A-Rezeptors konnte die Balance zwischen Endothelin-1/NO aufrechterhalten werden. In Folge wurde die

Mikrozirkulation verbessert und die Leberzellschädigung reduziert, so dass das Risiko eines SFSS sank (Palmes *et al.*, 2005).

(7.) Über einen ähnlichen Weg wie NO wirkt Kohlenmonoxid (CO) relaxierend auf Gefäße. Unter physiologischen Bedingungen entsteht CO als Intermediärstoffwechselprodukt im Häm-metabolismus und wird ebenso durch ein konstitutives Enzym, namens HO-2, gebildet (Pannen und Bauer, 1998). Bei Leberzirrhose oder nach pHx wird CO hauptsächlich durch das Stress-induzierbare Isoenzym HO-1 gebildet, dessen Aktivität dann bis zu 100-fach erhöht ist (Maines, 1997).

(8.) Schwefelwasserstoff (H₂S) ist neben Adenosin, NO und CO ein weiterer wichtiger endogener Vasodilatator (Zhao und Wang, 2002; Eipel *et al.*, 2010). Die Supplementation von H₂S verdoppelt nahezu die hepatoarterielle Pufferkapazität, wohingegen die Inhibition der Funktion von H₂S durch Blockade der K_{ATP}-Kanäle die Pufferkapazität der HABR bedeutend reduzierte (Siebert *et al.*, 2008). So kann davon ausgegangen werden, dass H₂S einen teilweisen Einfluss auf die HABR hat und dadurch die Vasodilatation der A. hepatica zum Teil beeinflusst.

(9.) Weitere Vasodilatoren sind Prostaglandin E, D und I. Die direkte Infusion von Medikamenten dieser Gruppe in die PV reduziert das Risiko für ein SFSS (Kiuchi *et al.*, 2003; Suehiro *et al.*, 2005).

Die aufgezählten operativen und pharmakologischen Verfahren werden bereits in der Klinik angewendet, ohne die genauen grundlegenden Mechanismen dahinter zu kennen. Zahlreiche Studien demonstrieren, dass der nach pHx durch die portale Hyperperfusion zunehmende Scherstress einer der Hauptgründe für das SFSS ist. Die Reduktion der portalen Hyperperfusion durch chirurgische Verfahren, wie z. B. durch Splenektomie, Embolisation der A. splenica oder portocavale Shunts, erhöhen die Überlebensrate nach ausgedehnter pHx (Lo *et al.*, 2003; Troisi *et al.*, 2005). Diese Hypothese muss jedoch nochmal überdacht werden, da u.a. auch die Substitution von NO die hepatische Zirkulation beeinflusste, die Schädigung von Lebergewebe reduzierte und die Leberfunktion verbesserte, dies aber nicht Folge einer Reduktion des sinusoidalen Scherstress war (Cantré *et al.*, 2008). Im Gegenteil, in angemessenem Maße ist der Scherstress sogar erforderlich für die Leberregeneration (Abshagen *et al.*, 2008; Schoen *et al.*, 2001; Schuett *et al.*, 2007). So berichteten Ishizaki *et al.* über exzellente Langzeitergebnisse für Patienten nach Transplantation eines linken Leberlappens mit portalvenösen Drücken > 20 mmHg und einem PVBF > 250 ml/min/100g (Ishizaki *et al.*, 2012). In einer anderen Studie

beobachteten Chan et al. sogar, dass die Transplantation eines rechten Leberlappens trotz eines PVBF von 400 ml/min/100g zu hohen Überlebensraten führte. Ogura et al. hingegen legen der portalen Hyperperfusion einen Grenzwert von 15 mmHg und 250 ml/min/100g zugrunde (Ogura *et al.*, 2010). Der in der frühen postoperativen Phase nach Lebendleberspende auf > 20 mmHg erhöhte PVBF führt einerseits zu einer rapiden Hypertrophie des Transplantates, andererseits aber auch zu einem niedrigen Outcome aufgrund einer Dysfunktion des Transplantates mit Hyperbilirubinämie, Koagulopathie und Aszites (Yagi *et al.*, 2005). Eine Reduktion des PVBF, wie in dieser Studie mittels Splenektomie erzielt, führt zu einem besseren Outcome (Yoshizumi *et al.*, 2008). Es stellt sich die Frage, inwiefern dies durch die Verminderung des Scherstresses und nicht möglicherweise durch die verbesserte hepatoarterielle Durchblutung (O_2) bedingt ist. Die intraoperative Messung sowohl des PVBF als auch des HABF ist wichtig, um das Risiko eines SFSS vorhersagen zu können (Eipel *et al.*, 2010). Die Modulation des hepatischen BF wäre in der Behandlung von Leberdysfunktionen bei SFS Transplantationen und ausgedehnter pHx nützlich (Eipel *et al.*, 2010). Es sollte jedoch auch erforscht werden, ob Verfahren mit Reduktion des PVBF und zusätzlicher verbesserter hepatoarterieller Durchblutung (O_2) durch Medikamente Verfahren mit portaler Hyperperfusion und zusätzlicher verbesserter hepatoarterieller Durchblutung (O_2) durch Medikamente unter- oder überlegen sind. Alle oben genannten Studien unterstützen die vorliegende Arbeit, welche demonstriert, dass das hepatoarterielle O_2 -Angebot für die zelluläre Integrität, Funktion und Regeneration der Leber von besonderer Bedeutung ist.

6 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die ausgedehnte pHx oder Transplantation einer SFS Leber führen bei konstanter Durchblutung des portalvenösen Einzugsgebietes zur stärkeren Durchblutung des verbleibenden/transplantierten Lebergewebes (portale Hyperperfusion). Eine simultane Splenektomie reduziert den PVBF, was zur Verminderung des intrahepatischen Scherstress führt. Gleichzeitig kommt es infolge der HABR zur Dilatation der A. hepatica und damit zur verbesserten arteriellen Durchblutung und Oxygenierung des Lebergewebes. Dies hat positive Effekte auf Organintegrität, Organfunktion und Leberregeneration. Eine zusätzliche Ligatur der A. hepatica schaltet den Mechanismus der HABR aus und begrenzt die therapeutische Maßnahme (Splenektomie) auf die Drosselung der portalen Hyperperfusion. Die Splenektomie bewirkt nach wie vor eine Senkung des PVBF, es kommt (aufgrund der durch Ligatur der A. hepatica ausgeschalteten HABR) jedoch nicht zur Dilatation der A. hepatica und damit nicht zur verbesserten arteriellen Durchblutung. Dies führt zur mangelhaften Oxygenierung des Lebergewebes und damit zur Störung von Organintegrität, Organfunktion und Leberregeneration. Für das SFSS scheint der arteriellen Hypoperfusion also weitaus größere Bedeutung zuzukommen als bisher angenommen.

Nun müssen Methoden etabliert werden, um die veränderten hämodynamischen Bedingungen in der SFS Leber positiv zu beeinflussen. Hierzu sollten pharmakologische und chirurgische Maßnahmen in großen, randomisierten Studien durchgeführt werden.

Literaturverzeichnis

Abbasoglu O, Levy MF, Testa G, Obiekwe S, Brkic BS, Jennings LW, Goldstein RM, Husberg BS, Gonwa TA, Klintmalm GB. Does intraoperative hepatic artery flow predict arterial complications after liver transplantation? *Transplantation* 1998; 66: 598-601.

Abshagen K, Eipel C, Vollmar B. A critical appraisal of the hemodynamic signal driving liver regeneration. *Langenbecks Arch Surg* 2012; 397: 579–590.

Abshagen K. Kupfferzellabhängige Regulation der Leberregeneration nach partieller Hepatektomie. Dissertation Universität Rostock 2008.

Akamatsu N, Sugawara Y, Satou S, Mitsui T, Ninomiya R, Komagome M, Ozawa F, Beck Y. Hemodynamic changes in the hepatic circulation after the modulation of the splenic circulation in an in vivo human experimental model. *Liver Transpl* 2014; 20:116-121.

Albrecht JH, Hansen LK. Cyclin D1 promotes mitogen-independent cell cycle progression in hepatocytes. *Cell Growth Differ* 1999; 10: 397-404.

Alston WC, Thomson RY. Humoral and local factors in liver regeneration. *Cancer Res* 1963; 23: 901-905.

Ando J, Tsuboi H, Korenaga R, Takada Y, Toyama-Sorimachi N, Miyasaka M, Kamiya A. Shear stress inhibits adhesion of cultured mouse endothelial cells to lymphocytes by downregulating VCAM-1 expression. *Am J Physiol* 1994; 267: C679-C687.

Aoki T, Imamura H, Kaneko J, Sakamoto Y, Matsuyama Y, Kokudo N, Sugawara Y, Makuuchi M. Intraoperative direct measurement of hepatic arterial buffer response in patients with or without cirrhosis. *Liver Transpl* 2005; 11: 684-691.

Balfour Dc Jr, Reynolds TB, Levinson DC, Mikkelsen WP, Pattison AC. Hepatic vein pressure studies for evaluation of intrahepatic portal hypertension. *AMA Arch Surg* 1954; 68: 442-447.

Betz W. The circulation within the liver, especially that of the hepatic artery. *Zeitschrift fuer rat Med* 1863; 18: 44-60.

Bohl W, Elmendorf W. Technische Strömungslehre, Vogel Fachbuch Kamprath-Reihe, 14. überarbeitete Auflage, 2008. Kapitel 6: Strömungsmesstechnik; Seite 416-417.

Boillot O, Delafosse B, Mechet I, Boucaud C, Pouyet M. Small-for-size partial liver graft in an adult recipient; a new transplant technique. *Lancet* 2002; 359: 406-407.

Boillot O, Mechet I, Le Derf Y, Bernard P, Figueiredo P, Berger F, Paquet C, Pouyet M. Portomesenteric disconnection for small-for-size grafts in liver transplantation: Preclinical studies in pigs. *Liver Transpl* 2003; 9: S42-46.

- Bolognesi M, Sacerdoti D, Bombonato G, Merkel C, Sartori G, Merenda R, Nava V, Angeli P, Feltracco P, Gatta A. Change in portal flow after liver transplantation: effect on hepatic arterial resistance indices and role of spleen size. *Hepatology* 2002; 35: 601-608.
- Bonney GK, Aldouri A, Attia M, Lodge PA, Toogood GJ, Pollard SG, Prasad R. Outcomes in right liver lobe transplantation: a matched pair analysis. *Transpl Int* 2008; 21: 1045-1051.
- Boyvat F, Aytakin C, Harman A, Sevmis S, Karakayali H, Haberal M. Endovascular stent placement in patients with hepatic artery stenosis or thrombosis after liver transplant. *Transplant Proc* 2008; 40: 22.
- Braet F, Shleper M, Paizi M, Brodsky S, Kopeiko N, Resnick N, Spira G. Liver sinusoidal endothelial cell modulation upon resection and shear stress in vitro. *Comp Hepatol* 2004; 3: 7.
- Browse DJ, Mathie RT, Benjamin IS, Alexander B. The role of ATP and adenosine in the control of hepatic blood flow in the rabbit liver in vivo. *Comp Hepatol* 2003; 2: 9.
- Brummer D. Operative Techniken zur Arterialisierung der Pfortader nach Leberteilektomie und orthotoper Lebertransplantation am Rattenmodell. Dissertation Ludwig-Maximilians-Universität München 2004; 3-4.
- Bucher NLR, Scott JF, Aub JC. Regeneration of the liver in parabiotic rats. *Cancer Res* 1951; 11: 457-465.
- Bucher NLR, Swaffield MN. The rate of incorporation of labeled thymidine into the deoxyribonucleic acid of regenerating rat liver in relation to the amount of liver excised. *Cancer Res* 1964; 24: 1611-1625.
- Buras JA, Stahl GL, Svoboda KK, Reenstra WR. Hyperbaric oxygen downregulates ICAM-1 expression induced by hypoxia and hypoglycaemia: the role of NOS. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278: 292-302.
- Burchell AR, Moreno AH, Panke WF, Nealon TF. Hepatic artery flow improvement after portocaval shunt: a single hemodynamic clinical correlate. *Ann Surg* 1976; 184: 289-302.
- Burton-Opitz R. The vascularity of the liver: the influence of the portal blood flow upon the flow in the hepatic artery. *Q J Exp Physiol* 1911; 4: 93-102.
- Busse R, Fleming I. Pulsatile stretch and shear stress: physical stimuli determining the production of endothelium derived relaxing factors. *J Vasc Res* 1998; 35: 73-84.
- Cantré D, Schuett H, Hildebrandt A, Dold S, Menger MD, Vollmar B, Eipel C. Nitric oxide reduces organ injury and enhances regeneration of reduced-size livers by increasing hepatic arterial flow. *Br J Surg* 2008; 95: 785-792.
- Cantwell SL. Ferret, rabbit, and rodent Anesthesia. *Vet Clin North Am* 2001; 4: 169-191.

Chan SC, Lo CM, Ng KK, Yong BH, Fan ST. Portal inflow and pressure changes in right liver living donor liver transplantation including the middle hepatic vein. *Liver Transpl* 2011; 17: 115-121.

Child CG. *The Hepatic Circulation and Portal Hypertension*. Philadelphia: W. B. Saunders Company 1954.

Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts: overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53: 957-978.

Couinaud C. Anatomic principles of left and right regulated hepatectomy: techniques. *J Chir (Paris)* 1954; 70: 933-966.

Cowan D, Stevens AL, Roberts VC. Design of continuous Doppler ultrasonic flowmeter for perivascular application. Part II: signal processing system. *Med Biol Eng Comput* 1988; 26: 153-160.

Dabeva MD, Shafritz DA. Activation, proliferation and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the D-galactosamine model of liver regeneration. *Am J Pathol* 1993; 143: 1606-1620.

Daemen MJAP, Thijssen HHW, van Essen H, Vervoort-Peters HTM, Prinzen FW, Struyker-Boudier HAJ, Smits JFM. Liver blood flow measurements in the rat. *Pharmacol Toxicol Methods* 1989; 21: 287-297.

Dahm F, Georgiev P, Clavien PA. Small-for-size syndrome after partial liver transplantation: definition, mechanisms of disease and clinical implications. *Am J Transplant* 2005; 5: 2605-2610.

De Carlis L, Sansalone CV, Rondinara GF, Belli LS, Rimoldi P, Romani F, Puttini M, Meroni A, Riolo F, Rossetti O, *et al.* Splenic artery steal syndrome after orthotopic liver transplantation: diagnosis and treatment. *Transplant Proc* 1993; 25: 2594-2596.

De Rubertis FR, Craven PA. Calcium-independent modulation of cyclic GMP and activation of guanylat cyclase by nitrosamines. *Science* 1976; 193(4256): 897-899.

Demetris AJ, Kelly DM, Eghtesad B, Fontes P, Wallis MJ, Tom K, *et al.* Pathophysiologic observations and histopathological recognition of the portal hyperperfusion or small-for-size syndrome. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 986-993.

DSO Jahresbericht 2013, 10.04.2014.

Eipel C, Abshagen K, Ritter J, Cantré D, Menger MD, Vollmar B. Splenectomy improves survival by increasing arterial blood supply in a rat model of reduced-size liver. *Transpl Int*. 2010; 23: 998-1007.

Eipel C, Abshagen K, Vollmar B. „Small-for-size“ Experimentelle Erkenntnisse für die Leberchirurgie. *Chirurg* 2012; 83: 238-246.

Eipel C, Abshagen K, Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: the hepatic arterial buffer response revisited. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 6046-6057.

Eipel C, Glanemann M, Nuessler AK, Menger MD, Neuhaus P, Vollmar B. Ischemic preconditioning impairs liver regeneration in extended reduced-size livers. *Ann Surg* 2005; 241: 477-484.

Emond J, Capron-Laudereau M, Meriggi F, Bernuau J, Reynes M, Houssin D. Extent of hepatectomy in the rat: evaluation of basal conditions and effects of therapy. *Eur Surg Res* 1989; 21: 251-259.

Ezzat WR, Lautt WW. Hepatic arterial pressure-flow autoregulation is adenosine mediated. *Am J Physiol* 1987; 252: H836-H845.

Farber JL, Gerson RJ. Mechanisms of cell injury with hepatotoxic chemicals. *Pharmacol Rev* 1984; 36: 71S-75S.

Fausto N, Riehle KJ. Mechanism of liver regeneration and their clinical implications. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 181-189.

Fausto N. Hepatocytes break the rules of senescence in serial transplantation studies – is there a limit to their replicative capacity? *Am J Pathol* 1997; 151: 1187-1189.

Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000; 32: 19-31.

Fausto N. Liver regeneration: from laboratory to clinic. *Liver Transplant* 2001. 7: 835-844.

Fitzgerald MJ, Webber EM, Donovan JR, Fausto N. Rapid DNA binding by nuclear factor kappaB in hepatocytes at the start of liver regeneration. *Cell Growth Diff* 1995; 6: 417-427.

Fleckenstein W, Schäffler A, Heinrich R, Petersen C, Günderoth-Palmowski M, Nollert G. On the differences between muscle pO₂ measurements obtained with hypodermic needle probes and with multiwire surface probes. In: Ehrly AM, Fleckenstein W, Hauss J, Huch R, editors, *Clinical Oxygen Pressure Measurement*, 2: 256–278. Verlag Blackwell Ueberreuther Wissenschaft, Berlin 1990.

Fondevila C, Hessheimer AJ, Taurá P, Sánchez O, Calatayud D, de Riva N, Muñoz J, Fuster J, Rimola A, García-Valdecasas JC. Portal hyperperfusion: mechanism of injury and stimulus for regeneration in porcine small-for-size transplantation. *Liver Transpl* 2010; 16: 364-374.

Fredholm BB, Ijzerman AP, Jacobsen KA, Klotz KN, Linden J. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 527-552.

Freise CE, Gillespie BW, Koffron AJ, Lok AS, Pruett TL, Emond JC, Fair JH, Fisher RA, Olthoff KM, Trotter JF, Ghobrial RM, Everhart JE; A2ALL Study Group. Recipient morbidity after living and deceased donor liver transplantation: findings from the A2ALL Retrospective Cohort Study. *Am J Transplant* 2008; 12: 2569-2579.

Fuchs J, Kahn Th, Moche M. Milzarterienembolisation mittels VascularPlug bei splenic artery steal syndrome (SASS) nach Lebertransplantation. *Fortschr Röntgenstr* 2012; 184 - VO306_3. Kongressbeitrag.

- Fujii H, Hirose T, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Fujikawa T, Nagao M, Yamaoka Y. Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Hepatol* 2002; 36: 653-659.
- Fukuchi T, Hirose H, Onitsuka A, Hayashi M, Senga S, Imai N, Shibata M, Yamauchi K, Futamura N, Sumi Y. Effects of portal-systemic shunt following 90% partial hepatectomy in rats. *J Surg Res*, 2000; 89: 126-131.
- Furchtgott LA, Chow CC, Periwal V. A Model of Liver Regeneration. *Biophysical Journal* 2009; 96: 3926-3935.
- Gad J. Studies on the relations of the blood stream in the hepatic artery. Dissertation Universität Berlin: G. Schade; 1873.
- Galanos C, Freudenberg MA, Reuter W. Galactosamine-induced sensitization to the lethal effect of endotoxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 5939-5943.
- Gaub J, Iversen J. Rat liver regeneration after 90% partial hepatectomy. *Hepatology* 1984; 4: 902-904.
- Geissler I, Lamesch P, Witzigmann H, Jost U, Hauss J, Fangmann J. Splenohepatic arterial steal syndrome in liver transplantation: clinical features and management. *Transpl Int* 2002; 15: 139-141.
- Glanemann M, Eipel C, Nussler AK, Vollmar B, Neuhaus P. Hyperperfusion syndrome in small-for-size livers. *Eur Surg Res*. 2005; 37: 335–341.
- Greenway CV, Lautt WW. In: Schultz SG, Wood JD, Rauner BB, editors, *Handbook of Physiology The Gastrointestinal System I*. American Physiological Society, New York: Oxford University Press 1989; 1:1519-1564.
- Greenway CV, Stark RD. Hepatic vascular bed. *Physiological Reviews* 1971; 51: 23-65.
- Grim PS, Gottlieb LJ, Boddie A, Batson E. Hyperbaric oxygen therapy. *JAMA* 1990; 263: 2216-2220.
- Grodzicki M, Anysz-Grodzicka, Remiszewski P, Cieślak B, Ktulski M, Kalinowski P, Paluszkiewicz R, Rowiński O, Krawczyk M. Treatment of early hepatic artery thrombosis after liver transplantation. *Transplantation Proceedings* 2011; 43: 3039-3042.
- Gruttadauria S, Mandala' L, Miraglia R, Caruso S, Minervini MI, Biondo D, Volpes R, Vizzini G, Marsh JW, Luca A, Marcos A, Gridelli B. Successful treatment of small-for-size syndrome in adult-to-adult living-related liver transplantation: single center series. *Clin Transplant* 2007; 21: 761-766.
- Gülberg V, Haag K, Rössle M, Gerbes AL. Hepatic arterial buffer response in patients with advanced cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 630-634.
- Hanna SS, Pagliarello G, Ing A. Liver blood flow after major hepatic resection. *Can J Surg* 1988; 31: 363-367.

- Henderson JM, Gilmore GT, Mackay GJ, Galloway JR, Dodson TF, Kutnre ME. Hemodynamics during liver transplantation: the interactions between cardiac output and portal venous and hepatic arterial flows. *Hepatology* 1992; 16: 715-718.
- Higgins G, Anderson R. Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 1931; 12: 186-202.
- Ho H, Sorrell K, Bartlett A, Hunter P. Modeling the hepatic arterial buffer response in the liver. *Med Eng Phys* 2012; 35: 1053-1058.
- Hofer SO, van der Kleij AJ, Gründeman PF, Klopper PJ. Continuous tissue oxygenation assessment during bloodflow alterations in an isolated hindlimb model of the pig. *Adv Exp Med Biol* 1994; 345: 693-700.
- Hortelano S, Dewez B, Genaro AM, Díaz-Guerra MJ, Boscá L. Nitric oxide is released in regenerating liver after partial hepatectomy. *Hepatology* 1995; 21: 776-786.
- Howden B, Jablonski P, Grossmann H, Marshall VC. The importance of the hepatic artery in rat liver transplantation. *Transplantation* 1989; 47: 428-431.
- Hsieh HJ, Li NQ, Frangos JA. Pulsatile and steady flow induces c-fos expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 1993; 154: 143-151.
- Ignarro LJ, Lipton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, Gruetter CA. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 218: 739-749.
- Ishizaki Y, Kawasaki S, Sugo H, Yoshimoto J, Fujiwara N, Imamura H. Left lobe adult-to-adult living donor liver transplantation: should portal inflow modulation be added? *Liver Transpl* 2012; 18: 305-314.
- Ito T, Kiuchi T, Yamamoto H, Oike F, Ogura Y, Fujimoto Y, Hirohashi K, Tanaka AK. Changes in portal venous pressure in the early phase after living donor liver transplantation: pathogenesis and clinical implications. *Transplantation* 2003; 75: 1313-1317.
- Iwao T, Toyonaga A, Shigemori H, Oho K, Sakai T, Tayama C, Masumoto H, Sato M, Tanikawa K. Hepatic artery hemodynamic responsiveness to altered portal blood flow in normal and cirrhotic livers. *Radiology* 1996; 200: 489-492.
- Jakab F, Ráth Z, Schmal F, Nagy P, Faller J. The interaction between hepatic arterial and portal venous blood flow; simultaneous measurement by transit time ultrasonic volume flowmetry. *Hepatogastroenterology* 1995; 42: 18-21.
- Jonsson K, Jensen JA, Goodson WH 3rd, West JM, Hunt TK. Assessment of perfusion in postoperative patients using tissue oxygen measurements. *Br J Surg* 1987; 74: 263-7.
- Kainuma M, Nakashima K, Sakuma I, Kawase M, Komatsu T, Shimada Y, Nimura Y, Nonami T. Hepatic venous hemoglobin oxygen saturation predicts liver dysfunction after hepatectomy. *Anesthesiology* 1992; 76: 379-386.

- Kamiike W, Fujikawa M, Koseki M, Sumimura J, Miyata M, Kawashima Y, Wada H, Tagawa K. Different patterns of leakage of cytosolic and mitochondrial enzymes. *Clin Chim Acta* 1989; 185: 265-270.
- Kelly DM, Demetris AJ, Fung JJ, Marcos A, Zhu Y, Subbotin V, ... Porcine partial liver transplantation: a novel model of the "small-for-size" liver graft. *Liver Transpl* 2004; 10: 253-263.
- Kelly DM, Zhu X, Shiba H, Irefin S, Trenti L, Cocieru A, Diago T, Wang LF, Quintini C, Chen Z, Alster J, Nakagawa S, Miller C, Demetris A, Fung JJ. Adenosine restores the hepatic artery buffer response and improves survival in a porcine model of small-for-size syndrome. *Liver Transpl* 2009; 15: 1448-1457.
- Kim RD, Kim JS, Watanabe G, Mohuczy D, Behrns KE. Liver regeneration and the atrophy-hypertrophy complex. *Semin Intervent Radiol* 2008; 25: 92-103.
- Kim TI, Mars WM, Stolz DB, Petersen BE, Michalopoulos GK. Extracellular matrix remodeling at the early stages of liver regeneration in the rat. *Hepatology* 1997; 26: 896-904.
- Kiuchi T, Kasahara M, Uryuhara K, Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K, Egawa H, Fujita S, Hayashi M, Tanaka K. Impact of graft size mismatching on graft prognosis in liver transplantation from living donors. *Transplantation* 1999; 67: 321-327.
- Kiuchi T, Oike F, Yamamoto H. Small-for-size graft in liver transplantation. *Nagoya J Med Sci* 2003; 66: 95-102.
- Kleemann PP. Klimatisierung anästhetischer Gase durch Reduktion des Frischgasflows. In: Jantzen J-PAH, Kleemann PP (Hrsg.): *Narkosebeatmung-Low flow, Minimal flow, Geschlossenes System*; Schattauer Verlag 1989; 101-123.
- Kraehenbuehl L, Feodorovici M, Renzulli P, Schafer M, Abou-Shady M, Baer HU. Laparoscopic partial hepatectomy in the rat: a new resectional technique. *Dig Surg* 1998; 15: 140-144.
- Kubota K, Makuuchi M, Kusaka K, Kobayashi T, Miki K, Hasegawa K, Harihara Y, Takayama T. Measurement of liver volume and hepatic functional reserve as a guide to decision-making in resectional surgery for hepatic tumors. *Hepatology* 1997; 26: 1176-1181.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weismann IL, Grompe M. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229-1234.
- Lahat N, Bitterman H, Yaniv N, Kinarty A, Bitterman A. Exposure to hyperbaric oxygen induces tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) secretion from rat macrophages. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 655-659.
- Larson JL, Stephenson LL, Zamboni WA. Effect of hyperbaric oxygen on neutrophil CD18 expression. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 1375-1381.
- Laufer WW, Greenway CV. Conceptual review of the hepatic vascular bed. *Hepatology* 1987; 7: 952-963.

Lautt WW, Greenwy CV. Hepatic venous compliance and role of liver as a blood reservoir. *Am J Physiol* 1976; 231: 292-295.

Lautt WW, Legare DJ, d' Almeida MS. Adenosine as putative regulator of hepatic arterial flow (the buffer response). *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1985; 248: H331-H338.

Lautt WW, Legare DJ. Adenosine modulation of hepatic arterial but not portal venous constriction induced by sympathetic nerves, norepinephrine, angiotensin and vasopressin in the cat. *Can J Physiol Pharmacol* 1986; 64: 449-454.

Lautt WW, Legare DJ. The use of 8-phenyltheophylline as a competitive antagonist of adenosine and an inhibitor of the intrinsic regulatory mechanism of the hepatic artery. *Can J Physiol Pharmacol* 1985; 63: 717-722.

Lautt WW, Ming Z. Hepatic hemodynamics in portal hypertension. In: Sanyal AJ, Shah VH (Hrsg.) *Portal hypertension: pathobiology, evaluation, and treatment*. Humana Press Inc, Totowa 2005; 85-97.

Lautt WW. Control of hepatic arterial blood flow: independence from liver metabolic activity. *Am J Physiol* 1980; 239: H559-H564.

Lautt WW. Hepatic vasculature: a conceptual review. *Gastroenterology* 1977; 73: 1163-1169.

Lautt WW. Intrinsic regulation of hepatic blood flow. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74: 223-233.

Lautt WW. Minireview. The hepatic artery: subservient to hepatic metabolism or guardian of normal hepatic clearance rates of humoral substances. *Gen Pharmacol* 1977; 8: 73-78.

Lautt WW. Regulatory process interacting to maintain hepatic blood flow constancy: Vascular compliance, hepatic arterial buffer response, hepatorenal reflex, liver regeneration, escape from vasoconstriction. *Hepatol Res*. 2007; 37(11): 891-903.

Lautt WW. Relationship between hepatic blood flow and overall metabolism: the hepatic arterial buffer response. *Fed Proc* 1983; 42: 1662-1666.

Lautt WW. Role and control of the hepatic artery. In: *Hepatic Circulation in Health and Disease*, edited by Lautt WW. New York: Raven Press. 1981; 203-226.

Lee SS, Girod C, Braillon A. Hemodynamic characterization of chronic bile-duct-ligated rats: effect of phenobarbital sodium. *Am J Physiol* 1986; 251: G176-G180.

Lee SS, Hadengue A, Girod C, Braillon A, Lebrec D. Reduction of intrahepatic vascular space in the pathogenesis of portal hypertension. *In vitro* and *in vivo* studies in the rat. *Gastroenterology* 1987; 93: 157-161.

Leist M, Gantner F, Bohlinger I, Germann PG, Tiegs G, Wendel A. Murine hepatocyte apoptosis induced *in vitro* and *in vivo* by TNF- α requires transcriptional arrest. *J Immunol* 1994; 153: 1778-1788.

Li J, Billiar TR. Nitric oxide. IV. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver. *Am J Physiol* 1999; 276: G1069-G1073.

Licox CMP, Monitoring der Gewebe-Oxygenierung. Kiel Mielkendorf. (Produktinformation).

Liu LM, Zhang JX, Luo J, Guo HX, Deng H, Chen JY, Sun SL. A role of cell apoptosis in lipopolysaccharide (LPS)- induced nonlethal liver injury in D-galactosamine (D-GalN)-sensitized rats. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1316-1324.

Lo CM, Liu CL, Fan ST. Portal hyperperfusion injury as the cause of primary nonfunction in a small-for-size liver graft-succesful treatment with splenic artery ligation. *Liver Transpl* 2003; 9: 626-628.

Longnecker DE, Seyde WC. Anesthetic regimes: Advantages and disadvantages. In: *Microcirculatory technology* (Eds. Baker CH, Nastuk WL). Academic Press 1986; 343-365.

Lundell A, Bergqvist D, Mattsson E, Nilsson B. Technical note. Volume blood flow measurements with a transit-time flowmeter: an in vivo and in vitro variability and validation study. *Clin Physiol* 1993; 13: 547-557.

MacDonald RA, Rogers AE, Pechet G. Regeneration of the liver: relation of regenerative response to size of partial hepatectomy. *Lab Invest* 1962; 11: 544-548.

Madrahimov N, Dirsch O, Broelsch C, Dahmen U. Marginal hepatectomy in the rat: from anatomy to surgery. *Ann Surg* 2006; 244: 89-98.

Maillard JN, Benhamou JP, Rueff B. Arterilization of the liver with portocaval shunt in the treatment of portal hypertension due to intrahepatic block. *Surgery* 1970; 67: 883-890.

Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 517-554.

Makuuchi M, Thai BL, Takayasu K, Takayama T, Kosuge T, Gunvén P, Yamazaki S, Hasegawa H, Ozaki H. Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for bile duct carcinoma: a preliminary report. *Surgery*, 1990; 107: 521-527.

Man DV, Lam WW, Hjelm NM, So NM, Yeung DK, Metreweli C, Lau WY. Human liver regeneration: hepatic energy economy is less efficient when the organ is diseased. *Hepatology* 2001; 34: 557-565.

Man K, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Fung PC, Liang TB, Lee TK, Tsui SH, Ng IO, Zhang ZW, Wong J. Graft injury in relation to graft size in right lobe live donor liver transplantation: a study of hepatic sinusoidal injury in correlation with portal hemodynamics and intragraft gene expression. *Ann Surg* 2003; 237: 256-264.

Man K, Lo CM, Ng IO, Wong YC, Qin LF, Fan ST, Wong J. Liver transplantation in rats using small-for-size grafts: a study of hemodynamic and morphological changes. *Arch Surg* 2001; 136: 280-285.

- Mangnall D, Bird NC, Majeed AW. The molecular physiology of liver regeneration following partial hepatectomy. *Liver Int* 2003; 23: 124-138.
- Manner M, Otto G, Senninger N, Kraus T, Goerich J, Herfarth C. Arterial steal: an unusual cause for hepatic hypoperfusion after liver transplantation. *Transpl Int* 1991; 4: 122-124.
- Marcos A, Fisher RA, Ham JM, Shiffman ML, Sanyal AJ, Luketic VA, Sterling RK, Fulcher AS, Posner MP. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 1375-1379.
- Marcos A, Olzinski AT, Ham JM, Fisher RA, Posner MP. The interrelationship between portal and arterial blood flow after adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation* 2000; 70: 1697-1703.
- Mars WM, Liu ML, Kitson RP, Goldfarb RH. Immediate early detection of urokinase receptor after partial hepatectomy and its implication for initiation of liver regeneration. *Hepatology* 1995; 21: 1695-1701.
- Martins PNA, Theruvath TP, Neuhaus P. Rodent models of partial hepatectomies. *Liver Int* 2008; 28: 3-11.
- Mathie RT, Blumgart LH. The hepatic hemodynamic response to acute portal venous blood flow reductions in the dog. *Pflügers Arch* 1983; 399: 223-227.
- Mazariegos GV, O'Toole K, Miele LA, Dvorchik I, Meza MP, Briassoulis G, Arzate J, Osorio G, Fung JJ, Reyes J. Hyperbaric oxygen therapy for hepatic artery thrombosis after liver transplantation in children. *Liver Transpl Surg* 1999; 5: 429-436.
- Menger MD, Richter S, Yamauchi JI, Vollmar B. Intravital microscopy for the study of the microcirculation in various disease states. *Ann Acad Med Singapore* 1999; 28: 542-556.
- Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver Regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66.
- Michalopoulos GK. Liver Regeneration. *J Cell Physiol* 2007; 213: 286-300.
- Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 2010; 176: 2-13.
- Mise Y, Sakamoto Y, Ishizawa T, Kaneko J, Aoki T, Hasegawa, Sugawara Y, Kokudo N. A worldwide survey of the current daily practice in liver surgery. *Liver Cancer* 2013; 2: 55-66.
- Mogl MT, Nüssler NC, Presser SJ, Podrabsky P, Denecke T, Grieser C, Neuhaus P, Guckelberger O. Evolving experience with prevention and treatment of splenic artery syndrome after orthotopic liver transplantation. *Transpl Int* 2010; 23: 831-841.
- Morello D, Lavenu A, Babinet C. Differential regulation and expression of jun, c-fos and c-myc, proto-oncogenes during mouse liver regeneration and after inhibition of protein synthesis. *Oncogene* 1990; 5: 1511-1519.

- Mori H, Shinohara H, Arakawa Y, Kanemura H, Ikemoto T, Imura S, Morine Y, Ikegami T, Yoshizumi T, Shimada M. Beneficial effects of hyperbaric oxygen Pretreatment on massive hepatectomy model in rats. *Transplantation* 2007; 84: 1656-1661.
- Morimoto RI, Santoro MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 833.
- Mucke I, Richter S, Menger MD, Vollmar B. Significance of hepatic arterial responsiveness for adequate tissue oxygenation upon portal vein occlusion in cirrhotic livers. *Int J Colorectal Dis.* 2000; 15: 335-341.
- Muralidharan V, Christophi C. Hyperbaric oxygen therapy and liver transplantation. *HPB* 2007; 9: 174-182.
- Nardo B, Puviani L, Caraceni P, Pacile V, Bertelli R, Beltempo P, Cavallari G, Chieco P, Pariali M, Pertosa AM, Angiolini G, Domenicali M, Neri F, Prezzi D, Tsivian M, Bernadi M, Cavallari A. Portal vein arterialization for the treatment of post resection acute liver failure in the rat. *Transplant Proc* 2006; 38: 1185-1186.
- Nikfarjam M, Malcontenti-Wilson C, Fanartzis M, Daruwalla J, Christophi C. A model of partial hepatectomy in mice. *J Invest Surg* 2004; 17: 291-294.
- Nishimura T, Yoshida Y, Watanabe F, Koseki M, Nishida T, Tagawa K, Kawashima Y. Blood level of mitochondrial aspartate aminotransferase as an indicator of the extent of ischemic necrosis of the rat liver. *Hepatology* 1986; 6: 701-707.
- Nishizaki T, Ikegami T, Hiroshige S, Hashimoto K, Uchiyama H, Yoshizumi T, Kishikawa K, Shimada M, Sugimachi K. Small graft for living donor liver transplantation. *Ann Surg* 2001; 233: 575-580.
- Nüssler NC, Settmacher U, Haase R, Stange B, Heise M, Neuhaus P. Diagnosis and treatment of of arterial steal syndromes in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2003; 9: 596-602.
- Ogura Y, Hori T, El Moghazy WM, Yoshizawa A, Oike F, Mori A, Kaido T, Takada Y, Uemoto S. Portal pressure <15 mm Hg is a key for successful adult living donor liver transplantation utilizing smaller grafts than before. *Liver Transpl* 2010; 16: 718-728.
- Olausson M, Backman L, Mjornstedt L, Krantz M, Kristiansson B, Wiklund L, Friman S. Thrombectomy and in situ fibrinolysis in the treatment of acute hepatic arterial thrombosis after liver transplantation in two children. *Eur J Surg* 1999; 165: 618-620.
- Palmes D, Minin E, Budny T, Uhlmann D, Armann B, Stratmann U, Herbst H, Spiegel HU. The endothelin/ nitric oxide balance determines small-for-size liver injury after reduced-size rat liver transplantation. *Virchows Arch* 2005; 447: 731-741.
- Palmes D, Spiegel H-U. Animal models of liver regeneration. *Biomaterials* 2004; 25(9): 1601-1611.
- Panis Y, McMullan DM, Emond JC. Progressive necrosis after hepatectomy and the pathophysiology of liver failure after massive resection. *Surgery.* 1997; 121: 142-149.

- Pannen BH, Bauer M. Differential regulation of hepatic arterial and portal venous vascular resistance by nitric oxide und carbom monoxide in rats. *Life Sci* 1998; 62: 2025-2033.
- Payen DM, Fratacci MD, Dupuy P, Gatecel C, Vigouroux C, Ozier Y, Chapuis Y, Houssin D, Chapuis Y. Portal and hepatic arterial blood flow measurements of human transplanted liver by implanted Doppler probes. *Surgery* 1990; 107: 417-427.
- Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Golf JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170.
- Pianim NA, Liu SY, Dubecz S Jr, Klein SR, Bongard FS. Tissue oxygenation in hypovolemic shock. *J Surg Res* 1993; 55: 338-343.
- Ponikvar R, Buturovic J, Cizman M, Mekjavić I, Kandus A, Premru V, Urbancic A, Zakotnik B, Bren A, Ivanovich A. Hyperbaric oxygenation, plasma exchange, and hemodialysis for treatment of acute liver failure in a 3-year-old child. *Artif Organs* 1998; 22: 952.
- Quintini C, Hirose K, Hashimoto K, Diago T, Aucejo F, Eghtesad B, Vogt D, Pierce G, Baker M, Kelly D, Miller CM. "Splenic artery steal syndrome" is a misnomer: the cause is portal hyperperfusion, not arterial siphon. *Liver Transpl* 2008; 14: 374-379.
- Rahman TM, Hodgsons HJ. Animal models of acute hepatic failure. *Int J Exp Pathol* 2000; 81: 145-157.
- Rappaport AM. Hepatic blood flow: morphologic aspects and physiologic regulation. *Int Rev Physiol* 1980; 21: 1-63.
- Richter S, Mücke I, Menger MD, Vollmar B. Impact of intrinsic blood flow regulation in cirrhosis: maintenance of hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G454-462.
- Richter S, Olinger A, Hildebrandt U, Menger MD, Vollmar B. Loss of physiologic hepatic blood flow control ("hepatic arterial buffer response") during CO₂-pneumoperitoneum in the rat. *Anaesth Analg* 2001; 93: 872-877.
- Richter S, Vollmar B, Mücke I, Post S, Menger MD. Hepatic arteriolo-portal venular shunting guarantees maintenance of nutritional microvascular supply in hepatic arterial buffer response of rat livers. *J Physiol* 2001; 531: 193-201.
- Rochelau B, Éthier C, Houle R, Huet PM, Bilodeau M. Hepatic artery buffer response following left portal vein ligation: its role in liver tissue homeostasis. *Am J Physiol* 1999; 277: G1000-G1007.
- Rogers J, Chavin KD, Kratz JM, Mohamed HK, Lin A, Baillie GM, Shafizadeh SF, Baliga PK. Use of autologous radial artery for revascularization of hepatic artery thrombosis after orthotopic liver transplantation: case report and review of indications and options for urgent hepatic artery reconstruction. *Liver Transpl* 2001; 7: 913-917.

- Saftoiu A, Ciurea T, Gorunescu F. Hepatic arterial blood flow in large hepatocellular carcinoma with or without portal vein thrombosis: assessment by transcutaneous duplex Doppler sonography. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 167-176.
- Sakamoto Y, Harihara Y, Nakatsuka T, Kawarasaki H, Takayama T, Kubota K, Kimura W, Kita Y, Tanaka H, Ito M, Hashizume K, Makuuchi M. Rescue of liver grafts from hepatic artery occlusion in living-related liver transplantation. *Br J Surg* 1999; 86: 886-889.
- Sakuhara Y, Abo Daisuke; Hasegawa Yu, Shimizu T, Kamiyama T, Hirano S, Fukumori D, Kawamura T, Ito YM, Tha KK, Shirato H, Terae S. Preoperative percutaneous transhepatic portal vein embolization with ethanol injection. *Am J Roentgenol* 2012; 198: 914-22.
- Sato Y, Koyama S, Tsukada K, Hatakeyama K. Acute portal hypertension reflecting shearstress as a trigger of liver regeneration following partial hepatectomy. *Jpn J Surg* 1997; 27: 518-526.
- Schaeffer DO, Hosgood G, Oakes MG, St Amant LG, Koon CE. An alternative technique for partial hepatectomy in mice. *Lab Anim Sci* 1994; 44: 189-190.
- Schenk WG Jr, McDonald JC, McDonald K, Drapanas T. Direct measurement of hepatic blood flow in surgical patients: with related observations on hepatic flow dynamics in experimental animals. *Ann Surg* 1962; 156: 463-471.
- Schlosser SF, Burgstahler AD, Nathanson MH. Isolated rat hepatocytes and bile duct cells by release of nucleotides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9948-9953.
- Schoen JM, Lautt WW. iNOS is not involved in shear stress-induced nitric oxide release, which triggers the liver regeneration cascade. *Proc West Pharmacol Soc* 2001; 44: 181-182.
- Schoen JM, Lautt WW. Nitric oxide potentiates c-fos mRNA expression after 2/3 partial hepatectomy. *Proc West Pharmacol Soc* 2002; 45: 47-48.
- Schoen JM, Lautt WW. The role of prostaglandins in triggering the liver regeneration cascade. *Nitric Oxide* 2005; 13: 111-117.
- Schoen JM, Wang HH, Minuk GY, Lautt WW. Shear stress-induced nitric oxide release triggers the liver regeneration cascade. *Nitric Oxide* 2001; 5: 453-464.
- Schramm U, Fleckenstein W, Weber C. Morphological assesment of skeletal muscular injury caused by pO₂ measurements with hypodermic needle probes. In: Ehrly AM, Fleckenstein W, Hauss J, Huch R, editors, *Clinical Oxygen Pressure Measurement*. Verlag Blackwell Ueberreuther Wissenschaft, Berlin 1990; 2: 38–50.
- Schuett H, Eipel C, Maletzki C, Menger MD, Vollmar B. NO counterbalances HO-1 overexpression induced acceleration of hepatocyte proliferation in mice. *Lab invest* 2007; 87: 602-612.
- Seyde WC, McGowan L, Lund N, Duling B, Longnecker DE. Effects of anaesthetics on regional hemodynamics in normovolemic and hemorrhaged rats. *Am J Physiol* 1985; 249: H164-H173.

Shah SA, Grant DR, McGilvray ID, Greig PD, Selzner M, Lilly LB, Girgrah N, Levy GA, Cattral MS. Biliary strictures in 130 consecutive right lobe living donor liver transplant recipients: results of a Western center. *Am J Transplant* 2007; 7: 161-167.

Sharma S, Gurakar A, Jabbour N. Biliary strictures following liver transplantation: past, present and preventive strategies. *Liver Transpl* 2008; 14: 759-769.

Shi Q, Dong Z; Wei H. The involvement of heat shock proteins in murine liver regeneration. *Cell Mol Immunol* 2007; 4: 53.

Shimamura T, Taniguchi M, Jin MB, Suzuki T, Matsushita M, Furukawa H, Todo S. Excessive portal venous inflow as a cause of allograft dysfunction in small-for-size living donor liver transplantation. *Transpl Proc* 2001; 33: 1331.

Shimizu Y, Miyazaki M, Shimizu H, Ito H, Nakagawa K, Ambiru S, Yoshidome H, Nakajima N. Beneficial effects of arterialization of the portal vein on extended hepatectomy. *Br J Surg* 2000; 87: 784-789.

Siebert N, Cantré D, Eipel C, Vollmar B. H₂S contributes to the hepatic arterial buffer response and mediates vasorelaxation of the hepatic artery via activation of K(ATP) channels. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1266-G1273.

Silva MA, Jambulingam PS, Gunson BK, Mayer D, Buckels JAC, Mirza DF, Bramhall SR. Hepatic artery thrombosis following orthotopic liver transplantation: a 10-year experience from a single centre in the United Kingdom. *Liver Transplantation* 2006; 12: 146-151.

Singhal A, Stokes K, Sebastian A, Wright HI, Kohli V. Endovascular treatment of hepatic artery thrombosis following liver transplantation. *Transpl Int* 2010; 23: 245.

Stange BJ, Glanemann M, Nuessler NC *et al.* Hepatic artery thrombosis after adult liver transplantation. *Liver Transpl* 2003; 9: 612.

Su AI, Guidotti LG, Pezacki JP, Chisari FV, Schultz PG. Gene expression during the priming phase of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11181-11186.

Suehiro T, Shimada M, Kishikawa K, Shimura T, Soejima Y, Yoshizumi T, Hashimoto K, Mochida Y, Hashimoto S, Maehara Y, Kuwano H. Effect of intraportal infusion to improve small for size graft injury in living donor adult liver transplantation. *Transpl Int* 2005; 18: 923-928.

Suehiro T, Shimura T, Okamura K, Okada T, Okada K, Hashimoto S, Mochida Y, Kuwano H, Saitoh S, Gotoh F. The effect of hyperbaric oxygen treatment on postoperative morbidity of left lobe donor in living donor adult liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1014-1019.

Taniguchi M, Shimamura T, Suzuki T, Yamashita K, Oura T, Watanabe M, Kamiyama T, Matsushita M, Furukawa H, Todo S. Transient portocaval shunt for a small-for-size graft in living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13: 932-934.

- Taub R. Liver regeneration 4: Transcriptional control of liver regeneration. *Faseb J* 1996; 10: 413-427.
- Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 836-847.
- Thom SR. Effect of hyperoxia on neutrophil adhesion. *Undersea Hyperb Med* 2004; 31: 123-131.
- Thompson NL, Mead J, Braun L, Goyette M, Shank PR, Fausto N. Sequential proto-oncogene expression during rat liver regeneration. *Cancer Res* 1986; 46: 3111-3117.
- Tolentino EC, Castro e Silva O; Zucoloto S, Souza MEJ, Gomes MCJ, Sankarankutty AK, Oliveira GR, Feres O. Effect of hyperbaric oxygen on liver regeneration in a rat model. *Transplant Proc* 2006; 38: 1947-1952.
- Tran NQ, Malcontenti-Wilson C, Hammoud S, Millar I, Christophi C, Muralidharan V. Hyperbaric oxygen therapy reduces the severity of ischaemia, preservation and reperfusion injury in a rat model of liver transplantation. *HPB* 2012; 14: 103-114.
- Transonic Systems Inc 2008; URL: www.transonic.com
- Troisi R, Cammu G, Militerno G, De Baerdemaeker L, Decruyenaere J, Hoste E, Smeets P, Colle I, Van Vlierberghe H, Petrovic M, Voet D, Mortier E, Hesse UJ, de Hemptinne B. Modulation of portal graft inflow: a necessity in adult living-donor liver transplantation? *Ann Surg* 2003; 237: 429-436.
- Troisi R, de Hemptinne B. Clinical relevance of adapting portal vein flow in living donor liver transplantation in adult patients. *Liver Transpl* 2003; 9: S36-S41.
- Troisi R, Ricciardi S, Smeets P, Petrovic M, Van Maele G, Colle I, Van Vlierberghe H, de Hemptinne B. Effects of hemiportocaval shunts for inflow modulation on the outcome of small-for-size grafts in living donor liver transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5: 1397-1404.
- Tucker ON, Heaton N. The "small for size" liver syndrome. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 150-155.
- Umeda Y, Yagi T, Sadamori H, Matsukawa H, Matsuda H, Shinoura S, Iwamoto T, Satoh D, Iwagaki H, Tanaka N. Preoperative proximal splenic artery embolization: a safe and efficacious portal decompression technique that improves the outcome of liver donor liver transplantation. *Transpl Int* 2007; 20: 947-955.
- Vollmar B, Menger MD. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol Rev* 2009; 27: 1544-1553.
- Walter J, Burdelski M, Böring DC. Chancen und Risiken der Leber-Lebendspende-Transplantation. *Deutsches Ärzteblatt* 2008; 105: 101-107.
- Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5510-5514.

- Wang HH, Lautt WW. Does nitric oxide (NO) trigger liver regeneration? *Proc West Pharmacol Soc* 1997; 40: 17-18.
- Wang HH, Lautt WW. Evidence of nitric oxide, a flow-dependent factor, being a trigger of liver regeneration in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76:1072-1079.
- Wanless I. Physio-anatomic considerations. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. *Diseases of the Liver*. 8th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.
- Weinbreen K, Woodward E. Delayed incorporation of P32 from orthophosphate into deoxyribonucleic acid of rat liver after subtotal hepatectomy. *Brit J Exp Path* 1964; 45: 442-449.
- Wen C, Li M, Whitworth JA. Validation of transonic small animal flowmeter for measurement of cardiac output and regional blood flow in the rat. *Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 482-486.
- Wenneker AS, Sussmann N. Regeneration of liver tissue following partial hepatectomy in parabiotic rats. *Proc Socs Exp Biol Med* 1951; 76: 683-686.
- White CR, Frangos JA. The shear stress of it all: the cell membrane and mechanochemical transduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2007; 362: 1459-1467.
- Wu CC. Possible therapies of septic shock: based on animal studies and clinical trials. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 3535-3541.
- Yagi S, Iida T, Taniguchi K, Hori T, Hamada T, Fujii K, Mizuno S, Uemoto S. Impact of portal venous pressure on regeneration and graft damage after living-donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2005; 11: 68-75.
- Yamamoto H, Nimura Y, Yasui A, Moriura S, and Kato M. Changes in hepatic hemodynamics and oxygen consumption after partial hepatic congestion in dogs. *Eur Surg Res* 1992; 24: 169-179.
- Yoichi T, Takayashiki T, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Kato A, Yoshitomi H, Furukawa K, Kuboki S, Okamura D, Suzuki D, Nakajima M, Miyazaki M. Protective effects of simultaneous splenectomy on small-for-size liver graft injury in rat liver transplantation. *Transpl Int* 2014; 27: 106-113.
- Yoshioka S, Miyazaki M, Shimizu H, Ito H, Nakagawa K, Ambiru S, Nakajima N, Fukuda Y. Hepatic venous hemoglobin oxygen saturation predicts regenerative status of remnant liver after partial hepatectomy in rats. *Hepatology* 1998; 27: 1349-1353.
- Yoshizumi T, Taketomi A, Yuji Soejima, Toru Ikegami, Hideaki U, Hiroto K, Noboru H, Yamashita H, Nishizak T, Maehara Y. The beneficial role of simultaneous splenectomy in living donor liver transplantation in patients with small-for-size graft. *Transpl Int* 2008; 9: 833-842.
- Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H474-H480.

Danksagung

Die Arbeiten zu dieser Dissertation entstanden am Institut für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock. Ich bedanke mich bei allen Personen, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Brigitte Vollmar, der Direktorin des Instituts für Experimentelle Chirurgie, für die Möglichkeit, diese Arbeit an ihrem Institut durchzuführen. Stets stand sie mir beratend und unterstützend zur Seite. Ihre außerordentlichen Kenntnisse und ihr profundes Fachwissen waren eine entscheidende Voraussetzung für den erfolgreichen Abschluss der vorliegenden Dissertation.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Professor Michael D. Menger, dem Direktor des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie an der Universität des Saarlandes für sein Interesse an dieser Arbeit.

Großer Dank gilt Herrn Dr. Christian Eipel und Frau Dr. Kerstin Abshagen für die intensive fachliche und menschliche Betreuung, für die Zeit, die sie sich stets nahmen, für ihre Geduld bei Fragen und Problemen, für die konstruktive Kritik. Jederzeit standen sie mir mit Rat und Tat zur Seite. Ohne zu zögern übernahm Frau Dr. Kerstin Abshagen die Betreuung dieser Arbeit, nachdem Herr Dr. Christian Eipel das Institut verließ. Durch zahlreiche fachliche Anregungen und konstruktive Kritik bis in die Endphase hinein haben sie die Gestaltung dieser Arbeit wesentlich mitbeeinflusst.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Berit Blendow, Doris Butzlaff, Dorothea Frenz und Maren Nerowski sowohl für ihre stetige gutgelaunte Hilfsbereitschaft und wertvolle technische Assistenz in allen Belangen des Laboralltags, als auch für ihre informativen Anregungen.

Nicht zuletzt möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Hartmut Stein und Frau Anja Gellert für ihre stetige Hilfsbereitschaft bedanken.

Allen Mitarbeitern der Experimentellen Chirurgie, auch den hier nicht namentlich genannten, bin ich für die gute und freundliche Zusammenarbeit, für ihre Hilfsbereitschaft und für das angenehme Arbeitsklima am Institut sehr dankbar.

Thesen zur Dissertation

1. Es besteht eine große Diskrepanz zwischen verfügbaren Organspenden und wachsenden Wartelisten. Daher erfahren die Leber-Lebendspende und Splitlebertransplantation als Alternativverfahren einen hohen Stellenwert.
2. Während dadurch in der Kinder-Lebertransplantation die Letalität der Kinder auf den Wartelisten nahezu eliminiert werden konnte, werfen diese beiden Verfahren in der Erwachsenen-Lebertransplantation noch größere Risiken und Vorbehalte auf, da das für den Erwachsenen benötigte Lebervolumen (bis zu 70% der Spenderleber) deutlich höher ist als für ein Kind.
3. Ist das verbleibende oder transplantierte Lebergewebe aufgrund der zu geringen Größe nicht in der Lage die Leberfunktion aufrechtzuerhalten, kommt es zum small-for-size Syndrom (SFSS), das mit einer deutlich höheren Morbidität und Mortalität einhergeht.
4. Als Hauptursache für das SFSS wurde bisher die portale Hyperperfusion mit dem einhergehenden hohen Scherstress auf die Gefäßwände des verbleibenden bzw. transplantierten Lebergewebes angenommen. Die Rolle der A. hepatica wurde in der Pathophysiologie des SFSS lange ignoriert.
5. In diesem Forschungsprojekt zeigten wir mittels Ultraschalllaufzeitverfahren, dass die ausgedehnte Leberresektion zur Hyperperfusion des verbleibenden Lebergewebes und - bedingt durch die hepatic arterial buffer response (HABR) – zur verminderten hepatoarteriellen Durchblutung führt. Letzteres resultiert in einem Abfall des Sauerstoffpartialdruckes (pO_2) im Lebergewebe. Die Hypoxie lässt sich anhand einer erhöhten Anzahl an Erythropoetin Rezeptoren (EpoR) nachweisen. Die Folgen sind Leberzellschädigung mit vermehrter Freisetzung von Transaminasen, eine verminderte hepatozelluläre Regeneration (geringere Anzahl Ki-67 positiver Hepatozyten) und damit einhergehend ein niedrigeres Lebergewicht sowie schlechteres Überleben.
6. Die Splenektomie vor partieller Hepatektomie (pHx) hat einen protektiven Effekt. Der portalvenöse Blutfluss (PVBF) wird reduziert und bewirkt über die HABR eine

bessere hepatoarterielle Durchblutung. Es kommt zum Anstieg des pO_2 mit einer geringeren Expression von EpoR. Die positiven Auswirkungen auf die Leberregeneration spiegeln sich in einer vermehrten Proliferation von Hepatozyten, einem erhöhten regenerierten Lebergewicht und besseren Outcome wider.

7. Die Ligatur der A. hepatica nach Splenektomie vor pHx hebt den positiven Effekt der Splenektomie auf.

8. Der Benefit operativer Verfahren zur Meidung/Behandlung eines SFSS beruht nicht allein auf der Reduktion des PVBF, sondern zusätzlich/vielmehr/mindestens genauso auf der verbesserten hepatoarteriellen Durchblutung.

9. Ziel weiterführender Untersuchungen sollte es sein, die hämodynamischen Veränderungen in der small-for-size Leber operativ und/oder pharmakologisch zu verbessern.

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass diese Arbeit von mir selbständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel erstellt worden ist. Die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht.

Ich versichere weiterhin, dass diese Arbeit nicht vorher und auch nicht gleichzeitig bei einer anderen als der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock zur Eröffnung eines Promotionsverfahrens eingereicht worden ist.

Rostock, den 03. September 2014

Jessica Ritter